



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QURÉTARO  
 FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES  
 MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN HUMANA

**Evaluación del efecto prebiótico de los polisacáridos del *Sargassum fluitans* en la fermentación microbiana de un modelo *in vitro*.**

**Presenta**

**Alejandra Torres Narváez**

**Dirigido por**

**Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez**

**Sinodales**

Dra. Andrea Margarita Olvera Ramírez  
 Dra. Santiago Marisela Ahumada Solórzano  
 Dr. Jorge Luis Chávez Servín  
 Dra. Tércia Cesária Réis de Souza

**I. DATOS GENERALES**

**- Título del proyecto.**

Evaluación del efecto prebiótico de los polisacáridos del *Sargassum fluitans* en la fermentación microbiana de un modelo *in vitro*.

**- Nombre del alumno.**

Alejandra Torres Narváez

**- Número de expediente.**

248984

**- Programa de Estudios a realizar (maestría o doctorado)**

Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana

**- Director de Tesis.**

Dr. Roberto Augusto Ferriz Martínez

**- Co-director (si es el caso).**

-Ninguno

**- Centro o lugar donde se realizará la investigación**

Laboratorio de Biología Celular y Molecular. Laboratorio de Microbiología.

**- Tipo de investigación: básica, aplicada o tecnológica (diseño, construcción de prototipo o prueba experimental).**

Básica

**UAQ- CAMPUS JURQUILLA Av. de las Ciencias S/N, Delegación, 76230 Juriquilla, Querétaro.**

## ÍNDICE

I. DATOS GENERALES.....	1
RESUMEN.....	5
ABSTRACT .....	6
II. INTRODUCCIÓN .....	7
III. ANTECEDENTES TEÓRICOS .....	8
3.1 Microbiota gastrointestinal .....	9
3.2 Funciones de la microbiota.....	14
3.2.1 Inmunomodulación .....	14
3.2.2 Protección .....	15
3.2.3 Estructura y función.....	15
3.2.4 Mantenimiento de la microbiota .....	16
3.3 Fermentación microbiana .....	17
3.3.1 Productos de la fermentación .....	18
3.3.2 Ácidos grasos de cadena corta .....	19
3.4 Metaboloma.....	22
3.5 Prebióticos.....	22
3.6 Probióticos.....	23
3.7 Simbióticos .....	24
3.8 Fibra .....	24
3.9 Polisacáridos en algas marinas .....	26
3.9.1 Alginato .....	27
3.9.2 Fucoïdan .....	27
3.9.3 Laminarina .....	27
3.10 Algas marinas.....	28
3.11 Sargazo .....	29
3.11.1 Clasificación .....	30
3.11.2 Composición nutrimental .....	31
3.11.3 Metabolitos secundarios.....	32
3.12 Proceso de digestión de polisacáridos del <i>Sargassum</i> .....	35

IV. JUSTIFICACIÓN .....	36
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	38
VI. COMITÉ DE BIOÉTICA.....	40
VII. HIPÓTESIS .....	41
VIII. OBJETIVOS .....	41
Objetivo general .....	41
Objetivos específicos.....	41
IX. MATERIALES Y MÉTODOS .....	42
9.1 Diseño de investigación.....	42
9.2 Recolección y tratamiento de la muestra .....	42
9.3 Extracción de polisacáridos .....	42
9.4 Fermentaciones in vitro en cultivo mixto .....	43
9.5 Análisis de ácidos grasos de cadena corta .....	44
9.6 Análisis estadísticos .....	45
X. RESULTADOS .....	45
XI. DISCUSIÓN .....	49
XII. CONCLUSIÓN.....	52
XI. BIBLIOGRAFIA .....	53

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Definiciones importantes para la comprensión de la microbiota gastrointestinal. ....	10
Tabla 2 Ejemplos de enzimas microbianas intestinales humanas.....	17
Tabla 3 Productos de la fermentación bacteriana .....	18
Tabla 4 Clasificación de la fibra .....	25
Tabla 5 Clasificación de macroalgas marinas .....	29
Tabla 6 Contenido nutrimental del Sargassum .....	32
Tabla 7 Fitoquímicos en el sargassum.....	34
Tabla 8. Producción de gas en cultivos mixtos en ml.....	46
Tabla 9 Producción de ácidos grasos de cadena corta en cultivos mixtos .....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Clasificación de la microbiota intestinal.....	11
Figura 2 Cantidad y composición de la microbiota intestinal .....	12
Figura 3 Sitios de la microbiota.....	13
Figura 4 Vía metabólica de Embdem-Meyerhoff .....	18
Figura 5 Densidad de sargazo de 2011 a 2018 .....	30
Figura 6 Digestión, absorción y excreción de hidratos de carbono .....	35
Figura 7. Diferencias en producción de gas .....	46
Figura 8. Ácidos grasos de cadena corta de manera individual .....	47

## RESUMEN

La microbiota gastrointestinal (MGI) tiene un estrecho vínculo con la salud humana, debido a que sus alteraciones están relacionadas con diversas patologías tanto del sistema digestivo como extra intestinales. Los hidratos de carbono no digeribles en el intestino, consumidos en la dieta, comúnmente conocidos como fibra, pueden ingresar al colón para ser metabolizados y fermentados por las bacterias colónicas de la MGI. Los hidratos de carbono no digeribles como los polisacáridos, al momento de ser fermentados por la MGI, se transforman en metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta. Además, dan pauta al incremento de bacterias benéficas y a la disminución de bacterias patógenas, manteniendo de esta forma la salud gastrointestinal. En el momento que estos compuestos no digeribles brindan beneficios al huésped, reciben el nombre de prebióticos. Dentro de la composición nutrimental de las algas marinas marones como el *Sargassum*, se encuentran los polisacáridos como el alginato, laminarina, fucoidan, agarosa, porfiran, carragenina, entre otros, los cuales son resistentes a la digestión. Esto sugiere que el *Sargassum fluitans* puede presentar actividad prebiótica, lo cual es el principal interés de este estudio. Por tal motivo, el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto prebiótico de los polisacáridos del *Sargassum fluitans* en la fermentación de un modelo *in vitro*. Este estudio, implica una investigación cuantitativa, con diseño metodológico descriptivo, transversal y correlacional. Respecto a los métodos, se llevaron a cabo fermentaciones *in vitro* con cultivos mixtos y se cuantificaron los ácidos grasos de cadena corta. Con relación a los resultados, se obtuvo un aumento en la concentración de acetato, propionato y butirato, durante la fermentación con *Sargassum fluitans*. Por lo anteriormente descrito y por el déficit de estudios que analicen a esta macroalga, es necesario incentivar el desarrollo de protocolos que evalúen específicamente al *Sargassum fluitans* como prebiótico.

## ABSTRACT

The gastrointestinal gut microbiota (GIM) is narrowly linked with human health; its disorders are related with several diseases both in digestive system and in extra intestinal system. The non-digestible carbohydrates in the intestine which are consumed in the diet commonly are known as fiber, they can get in to the colon to be metabolized and fermented by the colon bacteria from the GIM. The non-digestible carbohydrates like polysaccharides, at the moment they are fermented by the GIM are transformed into metabolites as the short chain fatty acids (SCFA). Also, generates the increase of beneficial bacteria and diminishing of pathological bacteria, keeping in this way gastrointestinal health. At the time these non-digestible compounds give benefits to the host, they are named as prebiotics. In the nutrimental composition of brown seaweed like *Sargassum*, are found the polysaccharides as alginate, laminarine, fucoidan, agarose, porfiran, carragenine, among others; which are digestion resistant. This suggests that *Sargassum fluitans* might be prebiotic activity, which is main focus for this research. For this reason, the objective of this research is to evaluate the prebiotic effect of the polysaccharides of *Sargassum fluitans* in the fermentation in an *in vitro* model. This study requires quantitative research criteria with a descriptive, transversal and correlational method design. Regarding the methodology, were made several *in vitro* fermentations with mixed culture and sort chain fatty acids were quantified with gas chromatography. The main results provide an increase of the acetate, propionate and butyrate concentrations during *Sargassum fluitans* fermentation, confirming that *Sargassum fluitans* has prebiotic activity. For this previous reason and lacking of studies related to this macro weed, is necessary to incentive the protocol development that specifically evaluates *Sargassum fluitans* as a prebiotic.

## II. INTRODUCCIÓN

La microbiota gastrointestinal (MGI) tiene un estrecho vínculo con la salud humana, debido a que sus alteraciones están relacionadas con diversas patologías tanto del sistema digestivo como extra intestinales. Los trastornos del sistema digestivo abarcan la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome del intestino irritable y la enfermedad celíaca. Por otro lado, los trastornos extra intestinales incluyen la obesidad, la aterosclerosis, el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares (Carding *et al.*, 2015; Sekirov *et al.*, 2010).

Las principales causas de las alteraciones de la microbiota gastrointestinal incluyen factores ambientales, la dieta, toxinas, medicamentos, microorganismos patógenos, entre otros. La dieta tiene un alto impacto en el mantenimiento de la microbiota gastrointestinal. Principalmente los hidratos de carbono no digeribles por las enzimas humanas, ingresan al colon y quedan disponibles para la utilización de los microorganismos de la microbiota colónica, convirtiendo los sustratos no digeribles a diversos metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta, quienes contribuyen al mantenimiento saludable de la microbiota intestinal y a la reducción del riesgo de las enfermedades anteriormente citadas (Carding *et al.*, 2015).

A estos compuestos resistentes a la digestión que generan cambios en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal y que confieren beneficios al huésped se les denominan prebióticos (Tungland, 2018). El principal prebiótico es la fibra dietética, presente en vegetales, frutas, algunos granos, semillas, algas, entre otros (Slavin, 2013). Se ha confirmado que las algas marinas son ricas en polisacáridos y contienen fibra soluble que aporta beneficios a la salud gastrointestinal (Charoensiddhi *et al.*, 2016; Kong *et al.*, 2016; Lynch *et al.*, 2009; Shang *et al.*, 2018).

El Sargazo (*Sargassum* spp.) es una macroalga parda que llega y se acumula en exceso en las costas de México y el Mar Caribe. Las dos principales especies

que se encuentran en las costas mexicanas son el *Sargassum fluitans* y el *Sargassum natans*, ambas representan un problema ambiental, social y económico, debido a las toneladas que se acumulan. El *sargassum fluitans* al ser un alga marina rica en polisacáridos, se planteó la hipótesis de que posee propiedades prebióticas pudiendo obtener un impacto benéfico a la salud gastrointestinal humana. Por consiguiente, esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto prebiótico de los polisacáridos del *Sargassum fluitans* en la fermentación y diversidad microbiana en un modelo *in vitro*.

Además, esta investigación contribuye a ofrecer información científica para el posible aprovechamiento del *Sargassum* como prebiótico, buscando un impacto directo en la mejora de la salud gastrointestinal de los seres humanos y así contribuir en la prevención de enfermedades asociadas a la microbiota gastrointestinal, como la obesidad, diabetes, aterosclerosis, entre otras. Asimismo, de manera simultánea se plantea que, al brindar una nueva aplicación para el Sargazo, se puede en un futuro disminuir el impacto ambiental.

### **III. ANTECEDENTES TEÓRICOS**

El estudio de la microbiota gastrointestinal ha tenido distintos enfoques epistemológicos a lo largo de su construcción, siendo uno de ellos (Sekirov *et al.*, 2010) el que sostiene que existe una relación entre distintos padecimientos y la MGI, como por ejemplo, la obesidad, la aterosclerosis, la diabetes mellitus tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares. Enfermedades que representan la primer causa de muerte a nivel mundial (Djakouré *et al.*, 2018).

El estudio de algas marinas tiene importantes contribuciones para el enfoque de la MGI, ya que contienen compuestos bioactivos y/o sus polisacáridos, que confieren beneficios a la salud gastrointestinal. Distintas investigaciones de los polisacáridos de algas marinas sostienen que éstos son resistentes a la digestión

intestinal, siendo metabolizados y fermentados por la MGI (Charoensiddhi *et al.*, 2019; Kong *et al.*, 2016; Lynch *et al.*, 2009; Shang *et al.*, 2018).

La fermentación aumenta la producción de AGCC e incrementa la abundancia de ciertas poblaciones bacterianas que pueden tener un beneficio en la salud intestinal humana. Fu *et al.*, (2018) estudiaron el impacto de los polisacáridos del *Sargassum thunbergii* en la MGI, demostrando incrementan las poblaciones bacterianas benéficas y la producción de AGCC. Sin embargo, es importante mencionar que aún quedan brechas de investigación pendientes de las especies de *Sargassum fluitans* y *Sargassum natans*.

Para esta investigación, se plantea el desarrollo de elementos conceptuales básicos, definiciones y los aspectos más relevantes que forman parte de las variables de estudio.

### **3.1 Microbiota gastrointestinal**

Todos los seres vivos, están en una constante relación con bacterias, virus, arqueas y eucariotas unicelulares. Los microbios están presentes en la piel y tractos genitourinario, respiratorio y gastrointestinal (Sekirov *et al.*, 2010). El tracto gastrointestinal (TGI), es un gran tubo de tejido muscular, por medio del cual el alimento ingerido se mueve. El TGI comienza en la boca, abarcando la faringe, el esófago, estómago, intestino delgado e intestino grueso, terminando con el recto y ano (Ishiguro *et al.*, 2018).

Existen tejidos que por naturaleza deben permanecer estériles, sin embargo, el intestino humano está en constante contacto con microorganismos. La microbiota gastrointestinal se define como un ecosistema complejo, dinámico y heterogéneo habitado por microorganismos que interactúan entre sí y con huésped (Y. Chen *et al.*, 2021). En cambio la totalidad de los microorganismos, sus genes y metabolitos se le conoce como microbioma (Icaza-Chávez, 2013). Debido a que son

varios los conceptos que permiten una mejor comprensión de la microbiota, estos se describen en la tabla 1.

Tabla 1 Definiciones importantes para la comprensión de la microbiota gastrointestinal.

Concepto	Descripción
Microbiota	Conjunto de microorganismos que viven en un determinado nicho ecológico
Microbioma	La totalidad de los microorganismos, sus genes y sus metabolitos.
Meta genoma	Al conjunto de material genético del microbioma y el huésped
Metagenómica	El estudio directo del material genético de las bacterias
Metabolómica	El estudio y cuantificación de los distintos metabolitos
Holobionte	Todo animal o planta que presenta relaciones simbióticas con microorganismos
Simbiosis	Relación benéfica entre el huésped y la microbiota
Disbiosis	Alteraciones de la microbiota y respuesta adversa del huésped a estos cambios.

Elaboración propia a partir de Cerqueda-García *et al.*, (2016); Guarner & Guarner, (2020); Icaza-Chávez, (2013).

Estos microorganismos evolucionan al paso del tiempo y pueden modificarse según los cambios endógenos y exógenos del huésped. La MGI se relaciona con diversos procesos fisiológicos incluido el estado nutricional del huésped. El intestino humano tiene una superficie de hasta 200m<sup>2</sup>, conformado por un tracto rico en moléculas, convirtiéndose en el lugar preferido de los microorganismos para colonizar (Sekirov *et al.*, 2010).

El TGI humano contiene una abundante comunidad microbiana, reuniendo hasta 100 billones de microorganismo (Hou *et al.*, 2022). Las bacterias presentes en la MGI difieren entre ellas en la actividad fermentativa, el uso de oxígeno, su distribución, su respuesta a la tinción de Gram y además se clasifican en distintas familias. La clasificación de las bacterias se puede dar por su reacción a la tinción Gram (figura 1), dando como resultado cuatro familias bacterianas, las Gram positivas como *Actinobacteria* y *Firmicutes*, y las Gram negativas como los *Bacteroidetes* y las *Proteobacterias* (Ochoa, 2013).

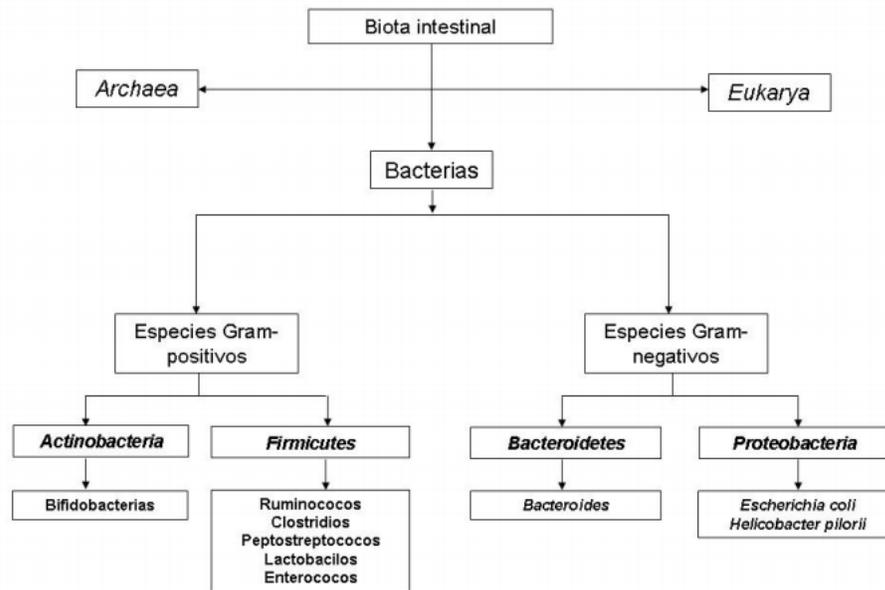


Figura 1 Clasificación de la microbiota intestinal  
Fuente: Ochoa, (2013).

Es importante identificar, nombrar y clasificar los diversos microorganismos presentes en la MGI y para esto, se usan distintos niveles taxonómicos, comenzando por el nivel más amplio hasta el más específico; dominio, filo, clase, orden, familia, genero, especies, y cepas (Ishiguro *et al.*, 2018). A continuación, se presenta un ejemplo.

- Dominio: Bacteria
- Filo: *Proteobacteria*
- Clase: *Gammaproteobacteria*
- Orden: *Enterobacterales*
- Familia: *Enterobacteriaceae*
- Género: *Escherichia*
- Especie: *Escherichia Coli*
- Cepa: *Escherichia Coli K-12*

Fuente: Ishiguro *et al.*, (2018), p. 6

La composición de la microbiota es distinta a lo largo de las diferentes partes del tracto digestivo (Figura 2). Los microorganismos anaerobios son los más abundantes, siendo principalmente la comunidad bacteriana, representada en su mayoría por dos grandes divisiones; *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. Bacterias como *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* y *Cianobacteria* se encuentran presentes en menor cantidad, conformando un total de aproximadamente 35 000 especies bacterianas. También se han encontrado hongos eucariotas como parte de la microbiota intestinal (Hou et al., 2022).

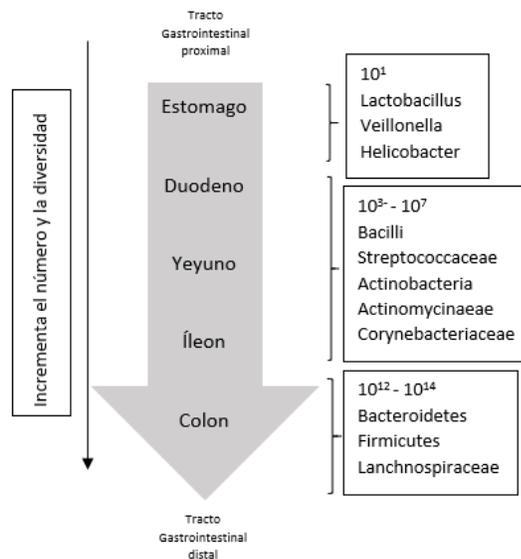


Figura 2 Cantidad y composición de la microbiota intestinal  
Modificado de Sekirov et al., (2010), p. 861

La MGI se compone de tres principales grupos de bacterias; grupo I, que consiste en microorganismos simbióticos para el huésped y que conforman la mayoría de la MGI; grupo 2, conformada por microorganismos ubicuos de las *Enterobacteriaceae*, como *E. coli* o del grupo *Enterococcus*, generalmente no predominan; y finalmente el grupo 3, compuesta por microorganismos patógenos que en condiciones normales se deben encontrar en pocas cantidades (Tungland, 2018).

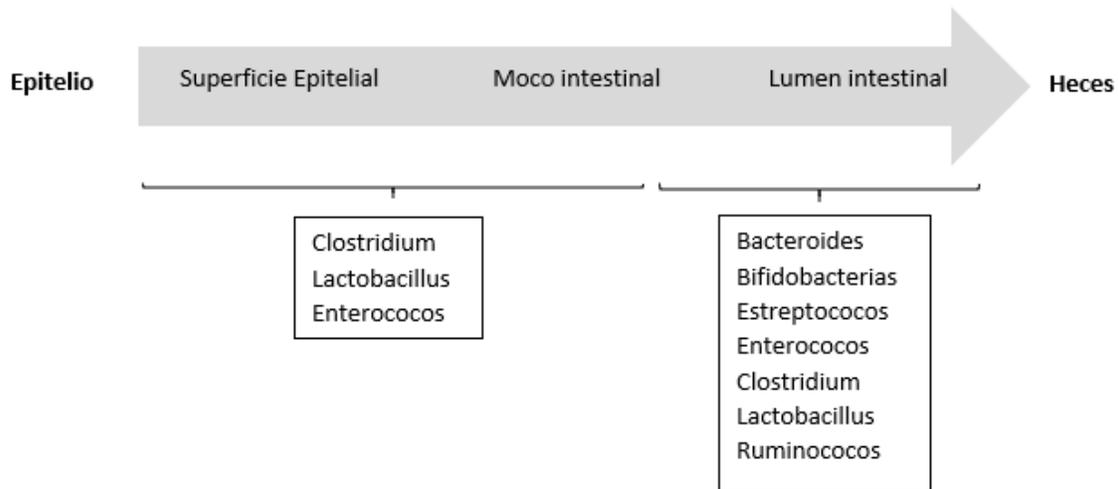


Figura 3 Sitios de la microbiota  
Modificado de Sekirov et al., (2010), p. 861

La MGI es heterogénea, la abundancia de bacterias se va modificando a lo largo del TGI, va desde los  $10^1$  hasta los  $10^{14}$  bacterias por gramo (figura 2). La microbiota se extiende en tres sitios; sobre el epitelio intestinal, en el moco y en el lumen intestinal (figura 3). La MGI coloniza al ser humano desde que nace, incluso estudios recientes sugieren la presencia de microbiota materna dentro de la placenta. Los bebés que nacen por cesárea, suelen estar colonizados por especies epidérmicas, como *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Propionobacterium* y *Corynebacterium* y presentan una menor cantidad de *Bacteroidetes* y *Bifidobacterium* en comparación con los bebés nacidos por vía vaginal. Por el contrario, los bebés nacidos por parto vaginal son colonizados por especies de la flora vaginal como *Lactobacillus* y *Prevotella* (Gritz & Bhandari, 2015).

Posterior al parto, factores ambientales, nutricionales, epigenéticos, medicamentos y edad pueden modificar la composición de la MGI. Por ejemplo, la distribución y abundancia de las colonias puede variar en el mismo individuo a lo largo de su vida (Hou *et al.*, 2022). Estos cambios pueden ocurrir a lo largo de la vida e ir teniendo fluctuaciones, sin embargo, la MGI debe mantenerse en cooperación mutua y en estabilidad funcional (Xu *et al.*, 2019). La MGI juega un

papel importante en el mantenimiento de la fisiología y producción de energía a lo largo de la vida humana (Nicholson *et al.*, 2012).

### **3.2 Funciones de la microbiota**

La MGI ha sido considerada un órgano metabólico, que realiza funciones de nutrición y desarrollo del sistema inmunológico (Icaza-Chávez, 2013). La MGI genera su propia energía a partir de los hidratos de carbono complejos de la dieta (fibra), los cuales, no se pueden digerir por el sistema digestivo humano, pero que los organismos de la microbiota pueden descomponerlos por medio de un complejo proceso conocido como fermentación. La MGI también puede modificar los genes encargados de la disposición de energía en los adipocitos y realizar funciones de inmunomodulación, protección, estructura y función, las cuales se describen a continuación (Icaza-Chávez, 2013; NEISH, 2009).

#### **3.2.1 Inmunomodulación**

Ante la presencia de MGI, existe un desarrollo del sistema inmunológico intestinal a través de células inmunitarias, anticuerpos, mediadores inflamatorios, citosinas y la activación de tejido linfoide asociado a la mucosa (GALT) a través de ganglios linfáticos mesentéricos locales (Donaldson *et al.*, 2015; Y. Liu *et al.*, 2022). Los GALT comprenden una serie de estructuras como las amígdalas, las placas de Peyer, el apéndice, placas colónicas y cecales, y folículos linfoides aislados (Donaldson *et al.*, 2015).

Las células epiteliales del intestino controlan la respuesta inmunitaria y el entorno local por medio de los AGCC. El butirato, estimula la fabricación del factor de crecimiento transformante  $\beta$  en las células epiteliales, generando la confluencia de linfocitos T a través de la inhibición de la histona desacetilasa (Yoo *et al.*, 2020).

### 3.2.2 Protección

La MGI brinda al individuo una barrera física contra distintos patógenos que pueden venir del exterior, además, estimula la producción de compuestos antimicrobianos como defensinas, catelicidinas y lectinas de tipo C, los cuales atacan directamente a los microorganismos patógenos. Se ha demostrado que los AGCC y el ácido litocólico también inducen la producción de catelicidinas. Los péptidos antimicrobianos (PAM) producidos por el huésped interactúan bidireccionalmente con la MGI; los PAM regulan la composición y el número de microorganismos de la MGI, mientras que la MGI también estimula la producción de diferentes tipos de PAM (Sekirov *et al.*, 2010).

La mucosa intestinal contiene una capa de moco que comprende una red hidratada de polímeros incluidas las proteínas de mucinas glicosiladas. Una de sus principales funciones es brindar protección, debido a que forma una primera capa o barrera para la infiltración de patógenos, enzimas o ácidos digestivos. Otra de sus funciones es proveer lubricación e hidratación, al ser una capa húmeda y llena de nutrientes. Por tal motivo, la mucosa ayuda al mantenimiento de la homeostasis intestinal y del organismo. Esta capa de moco varía en grosor, composición y patrón de glicosilación a lo largo del TGI, de ahí la diversidad de bacterias en el tubo digestivo (Herath *et al.*, 2020). A nivel del intestino delgado, se cuenta con una sola capa de moco que esta débilmente adherida al epitelio y es muy fácil de penetrar, en cambio, a nivel del colon distal se cuenta con dos capas de moco; la interna que es estéril y se encuentra bien adherida, formada de la glicoproteína mucina-2 secretada y la externa que alberga a la MGI y está muy poco adherida (Desai *et al.*, 2016; Herath *et al.*, 2020).

### 3.2.3 Estructura y función

La MGI tiene un papel importante en el desarrollo funcional y estructural del TGI y para que este logre su madurez, necesita alcanzar una motilidad peristáltica

eficiente, un suministro de sangre adecuado y el desarrollo de la MGI. De esta forma el TGI funcionará adecuadamente, tendrá una homeostasis y podrá recuperarse en caso de sufrir alguna lesión. Pero también las características del TGI como su estructura, su actividad mecánica y su fisiología, proporcionan el hábitat ideal para el desarrollo de la MGI, además, tiene una constante interacción con la MGI mediante funciones de nutrición y metabolismo (Guarner, 2007; Sekirov *et al.*, 2010).

### **3.2.4 Mantenimiento de la microbiota**

En la actualidad se sabe que los cambios en la alimentación tienen impacto en la microbiota intestinal, sobre todo la ingesta de hidratos de carbono (Tungland, 2018). Como se sabe, los hidratos de carbono ayudan a mantener la MGI, son la principal fuente de energía en el ser humano, proporcionando aproximadamente el 80% o más de las calorías (Insel *et al.*, 2019; Williams, 2010). Las unidades básicas de los hidratos de carbono o sacáridos, son los monosacáridos. La glucosa es el principal monosacárido utilizado por las células para brindar energía en los diferentes tejidos. La glucosa es metabolizada a través de la glucólisis en piruvato, para su posterior conversión a acetil coenzima A, quien entra al ciclo de Krebs y produce energía, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O (Rodwell *et al.*, 2016). Los hidratos de carbono se clasifican principalmente por su complejidad; hidratos de carbono simples y los hidratos de carbono complejos.

Hidratos de carbono simples: También conocidos como azúcares, están presentes en la naturaleza en alimentos como frutas, leche, entre otros. Estos a su vez se pueden dividir en monosacáridos y disacáridos (Roth, 2009; Williams, 2010):

- Monosacáridos: Son moléculas individuales de moléculas de azúcar, las cuales son; glucosa, fructosa y galactosa.
- Disacáridos: Consiste en dos moléculas de azúcar unidas mediante un enlace glucosídico; sacarosa, lactosa y maltosa (Roth, 2009; Williams, 2010).

Hidratos de carbono complejos: Son cadenas largas que comúnmente se conocen como almidón. Se conocen dos tipos, los oligosacáridos y los polisacáridos (Insel *et al.*, 2019; Williams, 2010).

- Oligosacáridos: Formados por cadenas de 3 a 10 monosacáridos.
- Polisacáridos: Formados por más de 10 moléculas monosacáridos (Insel *et al.*, 2019; Williams, 2010).

Ahora bien, los tipos de hidratos de carbono que no son digeribles como la fibra y ciertos almidones, son fermentados por los microorganismos de la MGI debido a que tienen enzimas para degradarlos (Icaza-Chávez, 2013; NEISH, 2009).

### 3.3 Fermentación microbiana

La fermentación de los polisacáridos y otros tipos de fibra es un proceso que tiene lugar en el colon y consiste en que los microorganismos de la MGI convierten los complejos polisacáridos no digeribles de la dieta en monosacáridos y en AGCC gracias a la presencia de enzimas específicas (tabla 2) (Icaza-Chávez, 2013; NEISH, 2009).

Tabla 2 Ejemplos de enzimas microbianas intestinales humanas

<i>Enzima</i>	<i>Compuestos</i>
<i>Triptofanasa</i>	Indol
<i>Descarboxilasa</i>	Aminas
<i>Cisteinasa desulfarasa</i>	Sulfuro de hidrógeno
<i>Desaminasa</i>	Amoníaco
<i>Ureasa</i>	Amoníaco
<i>Tirosinasa</i>	Fenoles
<i>Lecitinasa</i>	Dimetilamina

Modificado de Tunglund, (2018), p. 3

### 3.3.1 Productos de la fermentación

Los principales productos de la fermentación de la fibra son los AGCC, gases como hidrógeno, anhídrido carbónico y metano, entre otros (Tabla 3). Los polisacáridos son metabolizados por acción de las enzimas de las bacterias del colon. Este metabolismo con la conversión de los polisacáridos a glucosa y posteriormente a piruvato por la vía metabólica de Embdem-Meyerhoff (Figura 4). Después el piruvato se convierte en acetato, propionato y butirato, en una relación 60:25:15 ± 5. Ácidos grasos como valerato, hexanoato, isobutirato e isovalerato, se producen en menor proporción (Escudero & González, 2006).

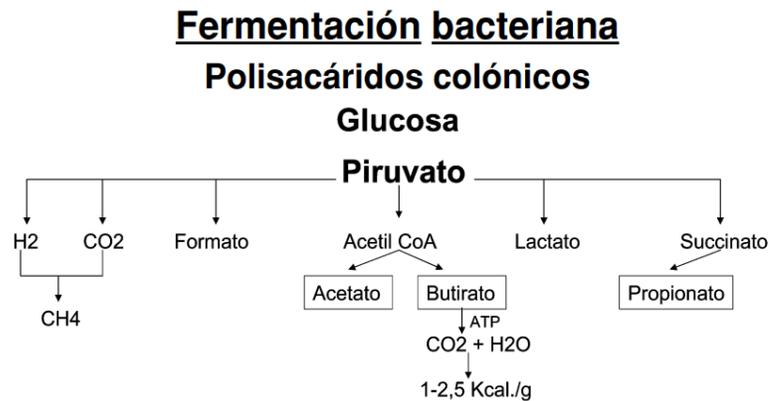


Figura 4 Vía metabólica de Embdem-Meyerhoff  
Fuente: Escudero & González, (2006).

Tabla 3 Productos de la fermentación bacteriana

<b>Metabolitos</b>	<b>Principales funciones biológicas</b>
Ácidos grasos de cadena corta: acetato, propionato, butirato, isobutirato, 2-metilpropionato, valerato, isovalerato, hexanoato.	Disminuyen del pH colónico, inhiben el crecimiento de patógenos; estimulan la absorción de agua y sodio; participan en la síntesis de colesterol; proporcionan energía a las células epiteliales del colon implicadas en enfermedades como la obesidad, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 y cáncer colorrectal.
Ácidos biliares	Absorben los lípidos y las vitaminas liposolubles de la dieta, mantienen el funcionamiento de la barrera intestinal, generan señales endocrinas sistémicas, regulan los triglicéridos, el colesterol, la homeostasis de glucosa y la energía.
Metabolitos de colina	Modulan el metabolismo de los lípidos y la homeostasis de la glucosa. Se relacionan en enfermedades como hígado graso no alcohólico, obesidad, diabetes y enfermedad cardiovascular.

Derivados fenólicos y benzoicos	Desintoxicación de xenobióticos. Injerencia en la composición y actividad de la microbiota.
Derivados del indol	Protegen contra las lesiones inducidas por el estrés en el tracto gastrointestinal; modulan la expresión de genes proinflamatorios y aumentan la expresión de genes antiinflamatorios. Fortalecen la barrera de células epiteliales. Implicados en patologías del tracto gastrointestinal y algunas afecciones neurológicas
Vitaminas: vitamina K, vitamina B12, biotina, folato, tiamina, riboflavina, piridoxina.	Proporcionan fuentes endógenas complementarias de vitaminas, regulan la función inmunológica, ejercen efectos epigenéticos para regular la proliferación celular.
Poliaminas: putrescina, cadaverina, espermidina, espermina	Ejercen efectos genotóxicos, antiinflamatorios y antitumorales sobre el huésped. Posibles marcadores tumorales.
Lípidos: ácidos grasos conjugados, lipopolisacáridos, peptidoglicano, acilgliceroles, esfingomielina, colesterol, fosfatidilcolinas, fosfoetanolaminas, triglicéridos	Coadyuvan en la permeabilidad intestinal, activan el eje intestino-hígado-cerebro para regular la glucosa, el lipopolisacárido induce inflamación sistémica crónica; los ácidos grasos conjugados mejoran la hiperinsulinemia, mejoran el sistema inmunológico y alteran los perfiles de lipoproteínas. El colesterol es la base para la producción ácidos biliares.
Otros: D-lactato, formiato, metanol, etanol, succinato, lisina, glucosa, urea, $\alpha$ -cetoisovalerato, creatina, creatinina, etc.	Síntesis o utilización directa o indirecta de compuestos y/o modulación de ligados.

Modificado de Nicholson *et al.*, (2012)

### 3.3.2 Ácidos grasos de cadena corta

Los ácidos grasos de cadena corta son los productos finales del proceso de la fermentación de la dieta, entre estos se encuentran el propionato, acetato, butirato y succinato. Los AGCC son fuente de energía para el ser humano, proporcionando alrededor del 5 al 15% de las necesidades energéticas. Son generados por la MGI, siendo el phylum firmicutes los principales en generarlos (NEISH, 2009).

Los AGCC son solubles en agua y se incorporan fácilmente al torrente sanguíneo. El butirato es utilizado por las células epiteliales colónicas como fuente de energía, además, se considera un nutrimento determinante para la actividad metabólica y crecimiento de los coloncitos. También, puede ejercer la función de protección contra enfermedades del colon (Lupton, 2004). El acetato es

metabolizado de forma sistémica por el cerebro, músculos y tejidos, a diferencia del propionato que es eliminado por el hígado y puede dar pauta a la síntesis de colesterol (Cummings & Macfarlane, 1991). Por otro lado, el succinato es un metabolito catabólico de la fermentación bacteriana y un intermediario para el ciclo de Krebs. La vía bioquímica del succinato es la más prevalente para la producción de butirato (Fernández-Veledo & Vendrell, 2019). La fermentación y producción de AGCC están involucradas en la disminución de crecimiento de organismos patógenos, puesto que disminuyen el pH luminal y fecal. El pH bajo (ácido) reduce la degradación de péptidos, la formación de compuestos tóxicos (como amoníaco, aminos y compuestos fenólicos) y también decremента la actividad de las enzimas bacterianas patológicas (Slavin, 2013).

Entre las principales funciones de los AGCC se encuentran; regular la homeostasis intestinal, ser sustratos energéticos para los colonocitos, regular la función barrera por medio de la síntesis de mucina-MUC2, controlar el sistema inmune a través de receptores acoplados a proteína G (GPR41, GPR43, GPR109A), diferenciación de las células, producir la interleucina 10 y 18, regular la señalización del receptor Olfr78, controlar los factores nucleares por medio de la histona desacetilasa (HDAC), mejorar la función barrera y controlar la producción de péptidos antimicrobianos intestinales (Markowiak-Kopeć & Ślizewska, 2020).

Posterior a la fermentación las concentraciones de AGCC en milimolares, quedan disponibles en la luz del intestino donde son absorbidas por los colonocitos por medio de transporte activo y pasivo (Deleu et al., 2021). Activamente por medio del transportador de monocarboxilato 1 (MCT-1) y, en menor medida, el transportador de monocarboxilato acoplado con sodio 1 (SMCT-1). Por otro lado, el transporte pasivo se da a través de la membrana por medio del intercambio de  $\text{HCO}_3$  indicando que se trata de un transportador monocarboxilato (MCT) 4 o 5. Los AGCC también pueden entrar a los capilares sanguíneos presentes en la mucosa intestinal y llegar al hígado a través de la vena porta (Hee & Wells, 2021). Las concentraciones de estos ácidos grasos volátiles son mayores en el colon proximal dada la mayor

disponibilidad de hidratos de carbono y la absorción de ellos en el epitelio (Deleu *et al.*, 2021).

### **Acetato**

El acetato es el AGCC más abundante y es producido principalmente por el filo Bacteroidetes (González Hernández *et al.*, 2019). En todas las partes del colon, el acetato tiene una concentración dos veces mayor al propionato y butirato. Las concentraciones en suero venoso pueden alcanzar los 200  $\mu\text{M}$  (Hee & Wells, 2021). Presenta diversas funciones como actuar como precursor en la síntesis de colesterol, ser supresor del apetito en el hipotálamo, función antiinflamatoria, modulación de la producción de quimiocitocinas, expresión de neutrófilos y células endoteliales (Al-Roub *et al.*, 2021).

### **Propionato**

El propionato es generalmente producido por el filo Bacteroidetes a través de la vía del succinato, aunque también se puede por las vías del acrilato y el propanodiol (Nogal *et al.*, s. f.). Funge como inhibidor de la gluconeogénesis y la síntesis de colesterol en el hígado, además de que tiene funciones antimicrobianas y antiinflamatorias (Markowiak-Kopeć & Śliżewska, 2020). Las concentraciones normales en plasma son entre 3-8  $\mu\text{M}$  (Blaak *et al.*, 2020).

### **Butirato**

Existen dos vías principales para la formación de butirato, a partir de butiril-CoA la vía de butiril-CoA:acetato CoA-transferasa y la vía de fósforo-transbutirilasa/butirato quinasa. Su producción está dada principalmente a partir de filo Firmicutes. Su producción es aproximadamente del 15-20% del total de AGCC equivalente a 14.700-24.400  $\mu\text{mol}$  por kg de contenido luminal en el colon y su

concentración plasmática es de aproximadamente  $<10 \mu\text{M}$ , esto debido a que el butirato es principalmente utilizado por los colonocitos. El butirato se distribuye a la circulación sistémica por medio de la circulación portal (Coppola *et al.*, 2021b). Entre sus principales funciones se encuentran las de proveer energía a los colonocitos, regular procesos epigenéticos, efectos antiinflamatorios y coadyuvar a la función barrera (Gasaly *et al.*, 2021)

### 3.4 Metaboloma

La MGI genera una gran cantidad de compuestos, que funcionan como una red de señalización metabólica, los metabolitos. El metaboloma es el conjunto de todos los metabolitos que se pueden encontrar en una muestra biológica. Entre los diversos metabolitos se encuentran los AGCC, los ácidos biliares, aminoácidos de cadena ramificada, N-óxido de trimetilamina, triptófano, metabolitos derivados del indol, entre otros (Agus *et al.*, 2021). Estos metabolitos son el resultado de factores genéticos, ambientales y metabólicos. (Vernocchi *et al.*, 2016). Es por esta razón que a través de los metabolitos se puede estudiar el entorno intestinal, cambios en las poblaciones bacterianas, diferencias en la dieta y factores externos (Pires *et al.*, 2019).

### 3.5 Prebióticos

La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), en (2008) definió a los prebióticos como “un componente alimentario no viable que confiere un beneficio para la salud del huésped asociado a la modulación de la microbiota” (D. G. Gibson *et al.*, 2010). Otra de las definiciones utilizadas de prebióticos es la de “*ingredientes alimentarios no digeribles (por el huésped) que tienen un efecto beneficioso a través de su metabolismo selectivo en el tracto intestinal*” o “un ingrediente alimentario fermentado selectivamente que da como resultado un

cambio específico en la composición y/o actividad del tracto gastrointestinal, lo que confiere beneficio(s) a salud del anfitrión” (Tungland, 2018)".

Cuando los polisacáridos no digeribles de la dieta son utilizados por las bacterias de la MGI en el proceso de fermentación, se les denominan prebióticos. Los prebióticos fomentan el mantenimiento de la MGI y proveen beneficios al huésped (NEISH, 2009; Tungland, 2018).

Los prebióticos participan directamente en el mantenimiento de la homeostasis y en mejorar la diversidad de la MGI, generando cambios favorables específicos como el incremento de la nutrición de los microorganismos, el trofismo de la mucosa intestinal y el aumento de los productos de la fermentación bacteriana (Guillot, 2017).

### **3.6 Probióticos**

Los probióticos se pueden definir como *"Microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped"* (NEISH, 2009). Estos microorganismos son bacterias, principalmente bifidobacterias y lactobacilos, que tienen un efecto benéfico sobre la salud intestinal. Estos microorganismos se suministran con el fin de proporcionar las mismas funciones similares a la MGI (NEISH, 2009). La FAO definió a los probióticos como microorganismos vivos agregados a la dieta que desempeñan un efecto beneficioso sobre la salud del huésped (FAO, 2001).

Los probióticos están indicados tanto en infantes, adultos y ancianos. Algunos de los principales usos terapéuticos son en diarreas agudas, deshidratación, estreñimiento, colitis, entre otras. El consumo de estos puede mejorar el tránsito intestinal, los desequilibrios en la MGI, estimular el sistema inmune, mejorar la digestión y absorción de nutrimentos, en general mantener la salud intestinal y del huésped (FAO, 2001; G. R. Gibson *et al.*, 2017; Guillot, 2017).

### 3.7 Simbióticos

Los simbióticos son alimentos funcionales que incluyen tanto prebióticos como probióticos. Están conformados por uno o más probióticos y con uno o más prebióticos. De tal manera que todos funcionen en sinergia y su combinación resulte en beneficios para la MGI y el huésped. Entre los principales usos de los simbióticos de encuentran; impactar directamente en la MGI y en la mucosa, reducir procesos inflamatorios y disminuir la progresión de enfermedades crónico-degenerativas no transmisibles (FLESCHE et al., 2014; Hdez et al., 2015; Rosas, 2011).

### 3.8 Fibra

La capacidad de utilizar y procesar hidratos de carbono complejos consumidos en la dieta es primordial para el mantenimiento y supervivencia de la MGI, ya que esta depende en su mayoría de la fibra no digerible y polisacáridos como fuente de energía. Cada uno de los microorganismos de la MGI, trabaja en equipo o en competencia con los demás para poder sobrevivir (Shang *et al.*, 2018).

La fibra es considerada como el principal prebiótico y esta puede clasificarse según sus propiedades químicas, grado de polimerización y estructura molecular (Tungland, 2018). Sin embargo, la principal clasificación utilizada es según su solubilidad en agua, dividiéndose en dos grandes grupos: 1) la fibra insoluble en agua que se considera parcialmente fermentable por la MGI y 2) la fibra soluble en agua, la cual es totalmente fermentable por la MGI (Tabla 4). La lignina, la celulosa y la hemicelulosa tipo b, pertenecen al grupo de fibra insoluble, mientras que las pectinas, gomas, mucilagos, hemicelulosa tipo A, entre otros polisacáridos son del grupo de fibra soluble. También existen sustancias análogas a la fibra como la inulina, el almidón resistente, azúcares no digestibles y fructooligosacáridos (Escudero & González, 2006).

Tabla 4 Clasificación de la fibra

Fibra	Lignina		Insoluble en agua ("fibra insoluble")
	Polisacáridos no almidónicos	Celulosa	
		Hemicelulosa (tipo B)	
	Hemicelulosa (tipo A) Pectinas Gomas Mucilagos Otros Polisacáridos	Soluble en agua ("fibra soluble")	
Sustancias análogas a la fibra	Inulina Fructooligosacáridos		En su mayoría soluble en agua
	Almidón resistente		
	Azúcares no digestibles		

Fuente: Escudero & González, (2006).

Los diversos tipos de fibra se encuentran en distintos alimentos de la dieta. Están presentes principalmente en vegetales, frutas, algunos granos, semillas, algas, entre otros. Por ejemplo:

- Celulosa: Compuesto más abundante en las paredes de los vegetales. Se encuentra principalmente en verduras, frutas, frutos secos y cereales como el salvado.
- B-Glucanos: Principalmente en vegetales.
- Hemicelulosa: Localizada junto a la celulosa, en las paredes de los vegetales y salvado.
- Peptina y análogos: En la laminilla media de la pared de las células vegetales, en cítricos y en la manzana.

- Gomas: Proviene de la transformación de polisacáridos de la pared celular (traumatismo). Se encuentran en la arábigo, karaya, tragacanto, gelana, algarrobo y guar.
- Mucilagos: Constituyentes celulares normales con capacidad de retención hídrica. Están presentes en las semillas del plántago, flores de malva, semillas de lino y algas.

(Escudero & González, 2006)

### **3.9 Polisacáridos en algas marinas**

Los polisacáridos son hidratos de carbono complejos, formados por más de 10 monosacáridos, pertenecen al grupo de fibra soluble y son totalmente fermentables por las bacterias de la MGI (Escudero & González, 2006; Insel *et al.*, 2019; Williams, 2010).

Las algas y los invertebrados son alimentos ricos en polisacáridos. Estos polisacáridos ya sean de origen vegetal como el alginato o de origen animal como el condroitin sulfato y la quitina, se ha demostrado que tienen efectos benéficos a la salud humana. Debido a que no hay enzimas específicas para la degradación de polisacáridos marinos, las diversas enzimas presentes en las bacterias de la MGI, pueden ser capaces de degradar y fermentar estos tipos de polisacáridos. Al consumir polisacáridos de las algas marinas y no ser absorbidos en la digestión humana, viajan al colon para incorporarse a las vías metabólicas de los microorganismos de la MGI (Shang *et al.*, 2018).

Todas las macroalgas marinas, son ricas en fibra, principalmente en fibra soluble, la cual se considera totalmente fermentable. Las distintas clases de macroalgas contienen altos porcentajes de fibra, las algas pardas contienen desde un 10% hasta 75%, las algas rojas de un 10%-59% y las algas verdes de un 29% a un 67%. La mayoría de los polisacáridos presentes en las macroalgas pardas,

pueden ser fermentados por la MGI, proporcionando un efecto prebiótico (Charoensiddhi *et al.*, 2019).

A continuación, se hablará sobre los principales polisacáridos presentes en algas marinas, específicamente en macroalgas pardas como el *Sargassum*.

### **3.9.1 Alginato**

El alginato es el principal polisacárido presente en algas marrones, está compuesto por un residuo de ácido  $\beta$ -D-manurónico enlazado 1,4 y ácido  $\alpha$ -L-gulurónico 1,4. El alginato no es tóxico y es biodegradable, tiene propiedades como viscosidad, proporcionadas por su peso molecular (Rashed *et al.*, 2020) contiene ácido polimanurónico y ácido poligulurónico. El alginato se encuentra disponible como ácido y como sal (Gurpilhares *et al.*, 2019).

### **3.9.2 Fucoïdan**

Por otro lado, el fucoïdan es un polisacárido sulfatado complejo, que contiene monosacáridos como azúcar fucosa, manosa, xilosa, galactosa, glucosa y ácido glucurónico (Gurpilhares *et al.*, 2019). El fucoïdan está compuesto por unidades de fucosa enlazadas  $\alpha$ - (1-3) o  $\alpha$ - (1-3) y residuos de fucosa enlazados alternativamente en  $\alpha$ - (1,4) (Rashed *et al.*, 2020).

### **3.9.3 Laminarina**

Considerada un  $\beta$ -glucano, está compuesto por un remanente de  $\beta$ -1,3-D-glucopiranososa ramificado con  $\beta$ -1,6-D-glucopiranososa (Gurpilhares *et al.*, 2019). Es un polisacárido de bajo peso molecular que contiene una diferentes de propiedades biofuncionales (Gurpilhares *et al.*, 2019; Rashed *et al.*, 2020; Xie & Cheong, 2021).

Ahora bien, teniendo en cuenta que las algas marinas como el *Sargassum* son ricas en polisacáridos, es pertinente abordar sobre los distintos tipos de algas marinas y describir más a detalle sobre el *Sargassum*.

### 3.10 Algas marinas

En los últimos años los compuestos bioactivos de algas marinas han cobrado inmensa relevancia, entre ellos se destacan fitoquímicos, ácidos grasos y polisacáridos.

Las algas marinas han sido utilizadas en las distintas industrias y culturas como alimento, cosmético y nutracéutico principalmente en Asia, en China, Japón y Corea, en Austria, Alemania, Bretaña, Estados Unidos, Canadá, entre otros (J. Liu, Luthuli, Wu, *et al.*, 2020; Peñalver *et al.*, 2020). Sus diversos componentes pueden ser beneficiosos en la salud humana (Múzquiz de la Garza *et al.*, 2019). En la actualidad, las algas marinas han sido consideradas fuente de metabolitos funcionales y se ha evaluado a lo largo de los años su potencial como actividad antiinflamatoria, antiviral, antitumoral, actividad prebiótica y sus diversos efectos en enfermedades crónico no transmisibles (J. Liu, Luthuli, Wu, *et al.*, 2020; J. Liu, Luthuli, Yang, *et al.*, 2020).

Los polisacáridos derivados de algas marinas entre ellas el *Sargassum*, usualmente se usan como agentes espesantes y gelificantes en la industria alimentaria.

Existen muchos tipos de algas marinas, sin embargo, en esta revisión se abordarán específicamente sobre las macroalgas marinas. Las cuales se dividen en tres grandes grupos: 1) las algas verdes o Clorofitas, 2) las algas rojas o Rodofitas, y 3) las algas pardas u Ocrofitas. Los distintos colores de cada alga se deben a los pigmentos que utilizan para realizar la fotosíntesis como se muestra en la tabla 5 (Gomez-Zavaglia *et al.*, 2019).

Tabla 5 Clasificación de macroalgas marinas

	<i>Algas verdes</i>	<i>Algas pardas</i>	<i>Algas rojas</i>
<i>Reino</i>	Plantae	Cromista	Plantae
<i>Filo</i>	Clorofita	Ocrofita	Rodofita
<i>Pigmentos</i>	B carotenos y xantofilas	B carotenos, xantofilas y fucoxantinas	Xantofilas, ficoeritrina y ficocianina
<i>Imagen</i>			

Modificado de Gomez-Zavaglia et al., (2019).

### 3.11 Sargazo

El Sargazo (*Sargassum* spp.) es una macroalga parda, que habita en la superficie del mar. Tiene diversas funciones marinas como ser lugar de descanso, reproducción, transporte y alimento para otras especies. El *Sargassum fluitans* y *natans* son las dos especies que frecuentemente llegan a las distintas costas del Mar Caribe, principalmente en los meses de mayo a septiembre acumulándose en las playas, como se puede observar en la siguiente figura (Djakouré *et al.*, 2018; Wang & Hu, 2016).

Existen distintos tipos de *Sargassum* y su clasificación ha sido realizada con base en las diversas características macro morfológicas como el desarrollo de sus ejes, la forma de sus vesículas, hojas y receptáculos. Con el paso del tiempo se han clasificado en diferentes subgéneros, subsecciones, series, grupos de especies y especies (Mattio *et al.*, 2010). Globalmente son alrededor de 9200 especies reportadas, alrededor de 6000 macroalgas rojas, 2000 pardas y 1200 verdes (Perumal *et al.*, 2019).

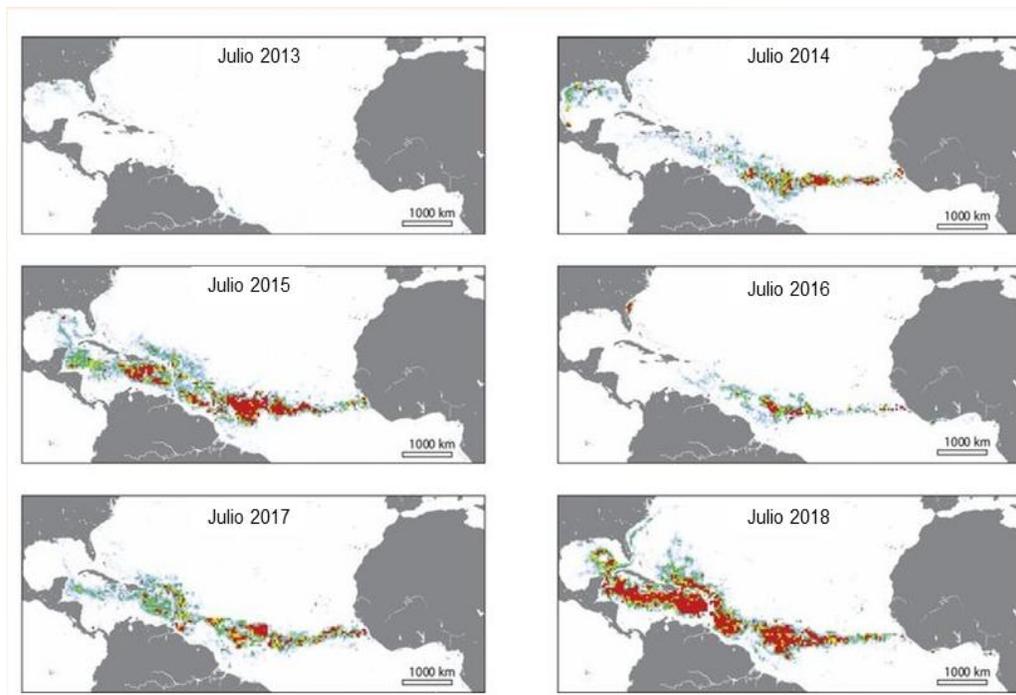


Figura 5 Densidad de sargazo de 2011 a 2018  
Fuente: Djakouré *et al.*, (2018); Wang & Hu, (2016)

### 3.11.1 Clasificación

El *Sargassum* se puede clasificar utilizando marcadores de ADN (Mattoo *et al.*, 2010). Encontrándose cuatro subgéneros; *Arthrophyucus*, *Bactrophyucus*, *Sargassum* y *Phyllotrichia*. En la actualidad se unieron los géneros *Bactrophyucus* y *Arthrophyucus* y se descubrieron 2 subgéneros más el *Phyllotrichia* y el *Trevistan*, que en conjunto con el subgénero *Sargassum*, siguen siendo cuatro subgéneros (Mattoo & Payri, 2011).

El *Sargassum natans* tiene vainas usualmente punteadas con una espiga, con hojas largas y estrechas pegadas al tallo, mientras que el *Sargassum fluitans* tiene generalmente vainas no punteadas con espiga, con hojas cortas y anchas pegadas al tallo (Arencibia-Carballo *et al.*, 2020).

### 3.11.2 Composición nutrimental

La composición nutrimental de las macroalgas marinas está influenciada por distintos factores como el hábitat, las estaciones del año, la etapa de madurez, la temperatura y las condiciones al momento de seleccionar la muestra. En general, se considera que las macroalgas verdes y rojas son ricas en hidratos de carbono, mientras que las macroalgas marrones tienen un alto contenido de fibra soluble y yodo. Es importante mencionar que la fibra soluble está relacionada con la reducción de glucemia y colesterol plasmático en los seres humanos (Debbarma *et al.*, 2016).

Las macroalgas marinas están compuestas por hidratos de carbono, lípidos, proteínas, minerales, enzimas, antioxidantes, metabolitos secundarios como los fitoquímicos y vitaminas A, C, E y Niacina (Perumal *et al.*, 2019). Entre los principales minerales se encuentran el potasio, magnesio, hierro y zinc. Las algas verdes y rojas tienen mayor contenido de vitaminas B, ácido pantoténico, ácido fólico y ácidos colónicos. Referente a los fitoquímicos, las macroalgas contienen diferentes tipos en comparación con los presentes en plantas terrestres (Perumal *et al.*, 2019).

Las algas marinas contienen hidratos de carbono como principal componente, alrededor de 50-60%. Entre las principales formas de cuantificar los hidratos de carbono en los diversos estudios está la calorimetría y el pesaje de cenizas (Kumar *et al.*, 2015). Sin embargo, tienen un bajo contenido lipídico 1.5 - 3%, en su mayoría contienen ácidos grasos poliinsaturados como omega 3 y 6, de ahí su consumo abundante en ciertas partes del mundo, principalmente en Asia (Kumar *et al.*, 2015). Respecto a las proteínas, estas varían significativamente entre las distintas macroalgas, por ejemplo, en las rojas y verdes, se considera entre 10-47%, mientras que las macroalgas pardas, tienden a tener menores cantidades de proteína, entre 3-15% (Kumar *et al.*, 2015).

A continuación, se muestra en la tabla 6 la composición nutricional de cinco especies de *Sargassum*, para poder observar la variabilidad de los distintos metabolitos primarios.

Tabla 6 Contenido nutrimental del *Sargassum*

	S. Polycystum	S. Padinagymnospora	S. llicifolium	S. vulgare	S. hystrix
Proteínas %	14.8	14.14	15.42	15.76	6.55
Hidratos de carbono %	25.0	21.40	27.33	67.80	58.72
Lípidos %	7.6	1.89	1.43	0.45	1.90
Fibra %	21.3	9.1	7.2	7.73	17.0
Cenizas %	29.0	27.4	22.32	14.20	18.5

Fuente Perumal et al., (2019), p. 494

### 3.11.3 Metabolitos secundarios

Son sustancias producidas naturalmente por las plantas, los fitoquímicos tienen distintas funciones como brindar el color, sabor y protección. Se clasifican en cinco grandes familias; los carotenoides, alcaloides, fitoquímicos con sulfuro, los que contienen nitrógeno y los compuestos fenólicos. A su vez, cada una de estas familias se divide en distintas clases de fitoquímicos (Yahia, 2018).

La mayoría de los artículos encontrados en la literatura, realizan el análisis fitoquímico a una sola especie de *Sargassum*. En algunos casos comparan dos o tres especies o utilizan la misma especie con distintos solventes. Por tal motivo, se realizó una revisión de artículos y sus metabolitos secundarios más frecuentes son los taninos, los compuestos fenólicos, los flavonoides, los alcaloides y las saponinas. Para visualizar de manera más clara esta información, se realizó la tabla 7.

El Sargazo ha sido utilizado como alimento y medicina en muchas culturas. También es utilizado en el mundo como alimento y en la producción de alginato, principalmente en Corea, Bangladesh, Brasil, Indonesia, Malasia, Myanmar, Filipinas y Vietnam (Charoensiddhi *et al.*, 2019). Los fitoquímicos presentes en las diversas especies de *Sargassum* tienen una amplia gama de propiedades farmacológicas. Asimismo, se ha encontrado que el Sargazo es rico en agentes que mantienen y promueven la salud (L. Liu *et al.*, 2012).

Por otro lado, el sargazo tiene propiedades higroscópicas, por ende, tiene la capacidad de flotar. La presencia de la gran biomasa flotante de Sargazo en los mares, trae consigo distintas implicaciones para el ecosistema marino: somete a estrés los pastos marinos y corales, disminuye el pH del agua debido a la producción de ácido sulfhídrico, aumenta la acumulación de sedimentos de materia orgánica, reduce la entrada de luz, afectando directamente a la flora, la fauna y permitiendo el crecimiento de epífitas (van Tussenbroek *et al.*, 2017).

Ciertamente, las arribazones del Sargazo a las costas son un problema en muchos aspectos, de ahí la necesidad de encontrar usos alternativos, respuestas científicas adecuadas, manejos ecológicamente amigables, estrategias sustentables y desarrollo de aplicaciones para su uso en las distintas industrias (Perera-Valderrama, 2018).

Tabla 7 Fitoquímicos en el sargassum

<i>sargassum</i>	S · F l u i t a n s	S · P o l y s t u m	S · T e n e r r i m u m	S · S w a r t z i i	S · a n g u s t i f o l i u m	S · O l i g o c y s t u m	S · C r a s s i f o l i u m	S · B o v e a n u m	S · i l i c i f o l i u m	S · D u p l i c a t u m	S · W i g h t i i
Taninos	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+
Alcaloides			+		+	+		+	+		+
Compuestos fenólicos			+	+		+	+			+	+
Flavonoides		+	+	+		+	+	+	+	+	+
Esteroides		+	+	+					+		+
Esteroles			+		+	+		+			
Terpenos	+			+			+		+		+
Saponinas			+	+	+	+		+	+		+
Cumarinas				+							
Catequinas											
Antraquinonas				+	+	+		+			
Glúcidos	+	+	+	+					+		
Grupos aminos	+										
Betacianina				+							
Quinonas	+			+							
Glúcidos cardiacos						+					
<b>Solvente</b> E: Etanol C: Cloroformo nH: n-Hexano eE: Etanoato de etilo B: Benceno M: Metanol	E	E C n H e E	E Y M	E A M	E	E	E	E	E	e E	E C n H A B M

Elaboración propia a partir de (Achary *et al.*, 2014; Arsianti *et al.*, 2020; Baleta *et al.*, 2017; Janarthanan & Kumar, 2013; Marimuthu *et al.*, 2012; Mehdinezhad *et al.*, 2016; Ponce Rey *et al.*, 2018; Setyati *et al.*, 2018; Sherwani *et al.*, 2012; Sujatha *et al.*, 2019).

### 3.12 Proceso de digestión de polisacáridos del *Sargassum*

Para poder entender cómo es que la los microorganismos de la MGI llegan a realizar el proceso de fermentación de polisacáridos no digeribles, es importante primero describir el proceso normal de digestión de los macronutrientes, enfocado a los hidratos de carbono (Figura 6).

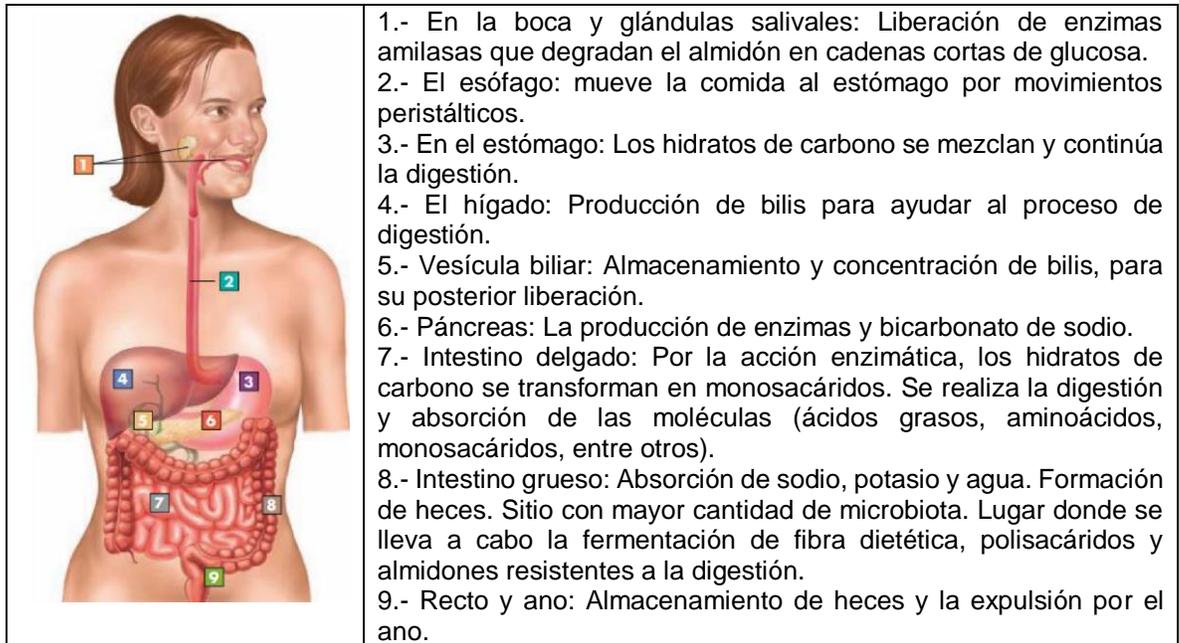


Figura 6 Digestión, absorción y excreción de hidratos de carbono  
 Fuente: (Insel *et al.*, 2019; Ishiguro *et al.*, 2018; Williams, 2010, p. 122)

#### IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la importancia de la salud intestinal y el mantenimiento de la microbiota gastrointestinal representan un factor para la disminución de diversas enfermedades relacionadas con el sistema digestivo (Sekirov *et al.*, 2010). Una mayor ingesta de fibra dietética tiene repercusiones benéficas en la salud intestinal debido a su mecanismo de acción. Entre los distintos tipos de fibra se encuentran los polisacáridos, compuestos no digeribles que pueden ser fermentados por la microbiota gastrointestinal y producir metabolitos. Los diversos metabolitos entre ellos los ácidos grasos de cadena corta, generan beneficios a la microbiota gastrointestinal, teniendo un impacto directo en la salud del huésped. Al conjunto de todos los diferentes tipos de metabolitos, se le denomina metaboloma y la microbiota gastrointestinal por medio de la producción y fermentación de metabolitos, controla vías de señalización implicadas en la homeostasis gastrointestinal (Slavin, 2013; Vernocchi *et al.*, 2016).

En el momento en que la fermentación de fibra dietética produce diversos metabolitos brinda beneficios a la salud huésped y/o modifica la microbiota gastrointestinal, recibe el nombre de prebiótico (Slavin, 2013). La fibra dietética se puede encontrar principalmente en vegetales, frutas, semillas, granos e incluso algas marinas. Ahora bien, partiendo de que el principal componente de las macroalgas pardas son los hidratos de carbono complejos, se consideran una fuente rica en fibra dietética (Shang *et al.*, 2018). Los polisacáridos derivados de algas marinas, usualmente se usan como agentes espesantes y gelificantes en la industria alimentaria. Además, existe evidencia emergente de que los polisacáridos derivados de distintas algas marrones son resistentes a la digestión humana y que son utilizados por la microbiota gastrointestinal, mostrando actividad prebiótica (Ramnani *et al.*, 2012).

El Sargazo es una macroalga parda, que habita en la superficie del mar, tiene diversas funciones marinas como ser lugar de descanso, reproducción, transporte

y alimento para otras especies. Sin embargo, una gran cantidad de sargazo ha llegado a las distintas costas del Mar Caribe, principalmente en los meses de mayo a septiembre acumulándose en las playas de México (Djakouré *et al.*, 2018; Wang & Hu, 2017). Lo que ha convertido en una seria amenaza económica, social y ambiental para el país. Desde 2011 se ha observado un crecimiento masivo y sostenido de las poblaciones de estas especies en el Atlántico, hasta alcanzar una longitud de 8,850 kilómetros en 2018, con una biomasa aproximada de 20 millones de toneladas (Djakouré *et al.*, 2018).

El Sargazo que se acumula en las playas debe ser recogido por cientos de trabajadores y cuando no es recogido, entra en descomposición afectando la salud humana y el turismo. Esto representa una gran amenaza ambiental para los ecosistemas costeros, creando grandes costos económicos. Dentro de las diferentes disciplinas se han propuesto diversas acciones y potenciales usos del Sargazo, por ejemplo; usado en biocombustibles, fertilizantes, materiales de construcción, como compuesto para hacer papel, producción de geles, uso en la industria alimentaria y química. Sin embargo, aún no se establece una aplicación que utilice el Sargazo como materia prima de manera constante.

Por lo anterior, es necesario crear protocolos de recolección de Sargazo, buscar alternativas para su uso e incentivar el desarrollo de aplicaciones en las distintas industrias. Asimismo, no hay estudios que evalúen específicamente a la macroalga *Sargassum fluitans*, siendo necesario investigar su composición y evaluar sus posibles efectos prebióticos.

Esta investigación tiene como objetivo determinar la actividad prebiótica de los polisacáridos del *Sargassum* en un modelo *in vitro* y de esta manera proporcionar información científica para desarrollar nuevas formas de utilización de esta macroalga. Además, se plantea que el uso del Sargazo como prebiótico puede ser un auxiliar en el mantenimiento de la salud gastrointestinal y en la disminución del riesgo de las enfermedades relacionadas con la microbiota gastrointestinal, coadyuvando así a salvar vidas.

## V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las alteraciones de la microbiota gastrointestinal se asocian con el desarrollo de distintas enfermedades intestinales y extraintestinales. Los trastornos intestinales incluyen la enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome del intestino irritable y enfermedad celíaca. Mientras que las enfermedades extraintestinales incluyen obesidad, aterosclerosis, alergias, diabetes, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares (Carding *et al.*, 2015; Sekirov *et al.*, 2010). Siendo estas últimas la principal causa de muerte en México y en el mundo (OMS, 2018).

Muchas son las condiciones y mecanismos que contribuyen a las alteraciones de la microbiota gastrointestinal, siendo la dieta uno de los principales factores ya que tiene una relación importante con la salud gastrointestinal. Los hidratos de carbono no digeribles por el intestino consumidos en la dieta, comúnmente conocidos como fibra, pueden ingresar al colón para ser metabolizados y fermentados por las bacterias colónicas de la MGI (Carding *et al.*, 2015). Los hidratos de carbono no digeribles como los polisacáridos, al momento de ser fermentados por la microbiota gastrointestinal, se transforman en metabolitos como los AGCC. Además, dan pauta al incremento de bacterias benéficas y a la disminución de bacterias patógenas, manteniendo de esta forma la salud gastrointestinal. En el momento que estos compuestos no digeribles brindan estos beneficios al huésped, reciben el nombre de prebióticos (Slavin, 2013).

Diferentes autores mencionan que las algas marinas tienen una actividad prebiótica, Charoensiddhi *et al.*, (2019), investigaron sobre las algas marinas y sus compuestos bioactivos, haciendo énfasis en los polisacáridos. Afirmando que éstos pueden ser utilizados como un gran suplemento dietético con beneficios para la salud intestinal. De igual manera Lynch *et al.*, (2009) mencionan que los polisacáridos de algas marinas, efectivamente son resistentes a la digestión mediada por las enzimas del tracto gastrointestinal humano y que indirectamente estimulan el crecimiento de bacterias benéficas, así como la producción de ácidos

grasos de cadena corta, confirmando de esta forma sus propiedades prebióticas (van Tussenbroek *et al.*, 2017).

Kong *et al.*, (2016) demostraron que los polisacáridos sulfatados de las algas marinas como *Enteromorpha prolifera* y *Laminaria japonica*, aumentaron significativamente los ácidos grasos acético, butírico y láctico, además que incrementaron la cantidad de bacterianas benéficas como lactobacillus y bifidobacterias. Por último, Shang *et al.*, (2018) se enfocaron en el estudio de polisacáridos marinos y sus efectos en la microbiota gastrointestinal quienes en su revisión bibliográfica brindan una visión general de cómo estos polisacáridos son metabolizados y fermentados por la microbiota gastrointestinal, concluyendo que tienen efectos sobre la ecología intestinal.

Por otro lado, desde el 2011 el Mar caribe ha experimentado una afluencia masiva de sargazo, principalmente las especies *fluitans* y *natans*. En mar abierto estas algas proporcionan un hábitat para peces, tortugas, invertebrados y aves marinas, además sirve como lugar para la crianza de varias especies. La llegada de Sargazo a las costas es en promedio 9,726 m<sup>3</sup> al mes por kilómetro, las cuales se acumulan en las playas y deben ser recogidas por cientos de trabajadores. Cuando las algas no son recogidas, entran en descomposición afectando la salud humana y el turismo, representando una gran amenaza ambiental para los ecosistemas costeros, creando grandes costos económicos (van Tussenbroek *et al.*, 2017).

Dentro de las diferentes disciplinas se han propuestos diversas acciones y potenciales usos del Sargazo, por ejemplo: usado en biocombustibles, fertilizantes, materiales de construcción, como compuesto para hacer papel, producción de geles, uso en la industria alimentaria y química. Sin embargo, aún no se establece una aplicación que utilice el Sargazo como materia prima de manera constante (Muñoz *et al.*, 2019).

Esto contribuye a una visualización panorámica de que el Sargazo ya es utilizado en otras partes del mundo, pero no con fines prebióticos. Actualmente no

hay estudios que hayan evaluado al *Sargassum fluitans* como prebiótico. Sin embargo, en las últimas décadas, distintas algas marinas han sido evaluadas como prebióticos debido a su alta cantidad de polisacáridos (Maia *et al.*, 2016). Lo que sugiere que el *Sargassum fluitans* puede presentar actividad prebiótica, lo cual es el principal interés de este estudio.

## **VI. COMITÉ DE BIOÉTICA**

El Sargazo fue recolectado en las playas de Quintana Roo, México y no requirió permiso de recolección. Asimismo no representó ninguna alteración ecológica. Esta investigación se llevó a cabo con microorganismos provenientes de heces fecales de cerdos de la Granja de la Posta de LMVZ, FCN, Campus Amazcala, los cuales fueron cuidados de acuerdo con lo descrito por la NOM-062-ZOO-199. La manipulación de los animales fue mínima y llevada por un veterinario, el cual estimuló el recto para detonar el reflejo de defecación y la muestra de materia fecal se depositó en un contenedor y se mantuvo a 4° C hasta llegar al laboratorio. Las heces fueron utilizadas para rellenar los fermentadores. Los desechos que se produjeron de los experimentos *in vitro* fueron previamente inactivados y debidamente dispuestos en los recipientes pertinentes (bolsas o contenedores rojos) de acuerdo con la norma oficial (NOM-087-ECOL-SSA1-2002, 2003), los cuales fueron etiquetados como Residuo Peligroso Biológico-Infecioso y posteriormente almacenados para su correcto transporte e incineración, el cual fue recolectado por una empresa especializada (TRIRSA, S.A. DE C.V.). Los residuos químicos se desecharon según la norma NOM-018-STPS-2015.

## VII. HIPÓTESIS

Los polisacáridos del *Sargassum fluitans* presentan un efecto prebiótico en la fermentación microbiana de un modelo *in vitro*.

## VIII. OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar el efecto prebiótico de los polisacáridos del *Sargassum fluitans* en la fermentación microbiana de un modelo *in vitro*.

### Objetivos específicos

- Estandarizar y poner a punto una técnica de fermentación *in vitro* con el sistema de producción de gas ANKOM
- Determinar la dosis de los polisacáridos del *Sargassum fluitans* con efecto prebiótico en la fermentación de un modelo *in vitro*.
- Evaluar el efecto prebiótico de los polisacáridos sulfatados del *Sargassum fluitans* mediante la cuantificación de ácidos grasos de cadena corta en la fermentación de un modelo *in vitro*.
- Evaluar el efecto prebiótico del *Sargassum fluitans* pulverizado con la cuantificación de ácidos grasos de cadena corta en la fermentación de un modelo *in vitro*.

## **IX. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **9.1 Diseño de investigación**

Para realizar el diseño metodológico, se tomaron las aportaciones de Bernal, (2010); Hernandez Sampieri *et al.*, (2014); Villasís-Keever & Miranda-Novales, (2016). Considerando a esta investigación como parte del paradigma cuantitativo, ya que, de acuerdo con Hernández Sampieri, este enfoque se centra en utilizar la recolección de datos, la medición numérica y el análisis estadístico, para conocer pautas o patrones en el comportamiento *per se* de los datos o de los individuos, y de esa manera probar teorías. Por otro lado, los alcances metodológicos para esta investigación son descriptivo, transversal, prospectivo y correlacional.

### **9.2 Recolección y tratamiento de la muestra**

El sargazo se recolectó de la playa Xpu Ha, en localidad de Solidaridad, Quintana Roo, ubicada en las coordenadas N20°28'45.01" O87°13'0.01". Se recolectaron 2 muestras con un peso aproximado de 800-1000 g, las cuales se enjuagaron con agua potable para remover materia inorgánica (arena, rocas, plástico). Posterior a eso, fueron transportadas por paquetería a la ciudad de Querétaro. Luego fueron desempaquetadas y enjuagadas con agua destilada. Finalmente, las muestras fueron liofilizadas hasta obtener peso constante y después fueron pulverizadas en molino de choque de aspa IKA modelo M20 S003, para su posterior uso.

### **9.3 Extracción de polisacáridos**

#### **Polisacáridos crudos**

Para esta metodología se tomaron en cuenta las aportaciones de Chen *et al.*, (2021). En la cual se comenzó por mezclar 10 g de *sargassum fluitans* pulverizado con una solución de 200 ml de metanol/diclorometano/agua (4:2:1). Esta mezcla se

colocó en agitación constante a temperatura ambiente por 24 h. Después se centrifugó a 400x g, 15 min y el precipitado obtenido se secó a 40 °C hasta tener peso constante. La muestra seca se resuspendió en agua destilada a temperatura ambiente por 10 min. Posteriormente la mezcla se calentó a 90 °C por baño maría durante 2 h, a continuación se centrifugó a 400x g, 15 min y el precipitado se resuspendió en triples volúmenes de etanol al 95 %, luego se almacenaron a 4 °C durante la noche. Finalmente se realizó una tercera centrifugación a 400x g, 15 min y el precipitado se disolvió con agua caliente, para secar por liofilización durante 24 h para obtener los polisacáridos crudos de *Sargassum fluitans* (PCSF). El rendimiento de polisacáridos (%), se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento PCSF (\%)} = \frac{\text{peso de PCSF crudo (g)}}{\text{peso del sargassum fluitans seco (g)}} \times 100$$

### **Polisacáridos Sulfatados**

La extracción de los polisacáridos sulfatados crudos se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Silva *et al.*, (2005), en el cual 10 g de polvo de algas se incubaron durante 24 h con acetona para eliminar los lípidos y los pigmentos. Posterior se secó en horno por 24 h a 40°C asegurando la evaporación de la acetona. El residuo se disolvió en 2 volúmenes de NaCl 0,25 M posterior se añadió tripsina (10 mg) al contenido para proteólisis y se incubó durante 24 h, el pH se controló periódicamente a 8 usando una solución de NaOH. Después de la incubación, el contenido se filtró a través de una gasa y se precipitó usando acetona enfriada con hielo con agitación suave a 4 °C.

### **9.4 Fermentaciones in vitro en cultivo mixto**

Contenido fecal se recolectó de tres cerdos de engorda de aproximadamente 110 kg con edad de 105 días, alimentados con una dieta comercial engorda-tec de Nutec. Una vez recolectadas las muestras, se transportaron al laboratorio a una temperatura de 4-8°C. Posteriormente las heces fecales se homogenizaron y se

diluyeron al 10% (p/v) en una solución amortiguadora (búfer salino fosfatado, 0.1M con un pH de 7.0). Cada recipiente fue inoculado con 15 ml de muestra de estiércol líquido (10% p/v) junto con la dosis de prebiótico 1.5% (p/v). En paralelo se realizó una muestra control sin adición de polisacáridos.

Las fermentaciones anaeróbicas *in vitro* de los polisacáridos se realizaron en un sistema de cuantificación de gas de la marca ANKOM y de acuerdo con el método descrito por Han *et al.*, (2019) con modificaciones. El medio partió de los siguientes componentes por litro: 2 g de triptona, 125  $\mu$ L de solución micro mineral (132 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 100 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  y 10 g  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  por litro), 250 mililitros solución tampón (4 g de  $\text{NH}_4\text{CHO}_3$  y 35 g de  $\text{NaHCO}_3$ ), 250 mililitros de solución micro mineral (5,7 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 6,2 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 0,6 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  por litro de agua destilada) y 1 ml de solución de resazurina. Posterior al aforado de 1L, se adicionaron 33.5 ml de solución reductora (625 mg de HCL-cisteína, 4 ml de NaOH 1N, 625 mg de  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  aforado a 100ml de agua destilada). El medio se ajustó a pH de 7.2 y se esterilizó a 121 °C durante 30 min. Los prebióticos se rehidrataron en el medio de cultivo durante 1 h a 37 °C. Después a cada vial se le añadieron los inóculos con una concentración de 10 % (p/v) y se rociaron con gas  $\text{CO}_2$  durante 30 segundos. Todos los fermentadores se incubaron en una incubadora a 37 °C durante 24 h.

### **9.5 Análisis de ácidos grasos de cadena corta**

Posterior a las 24 h de incubación de las fermentaciones, los viales se mantuvieron a una temperatura de 4-8°C durante 1 h para generar condensación de los AGCC. A continuación se tomaron y congelaron muestras de cada fermentador para su posterior análisis por cromatografía de gases. Para la cuantificación se utilizó una mezcla estándar de AGCC con ácido acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalerico y caproico. Las concentraciones se calcularon en mol / mililitro comparando sus áreas de pico con los estándares.

## 9.6 Análisis estadísticos

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. Para el análisis de ácidos grasos de cadena corta se realizó un análisis unidireccional de varianza (ANOVA) para comparar las medias. Además, se realizaron pruebas de Dunnet para comparar con el control y Tukey para comparar los diferentes grupos. Las diferencias de ácidos grasos de cadena corta se consideraron estadísticamente significativas si  $p < 0.05$ . Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS versión 21.

## X. RESULTADOS

### Estandarización de la técnica

Las concentraciones de estimación de gas generado después de 24 h de fermentación en cultivo mixto se encuentran en la tabla 8. La estimación se realizó a partir de la presión en psi. En contraste con los resultados obtenidos de los controles 1 y 2 con  $1 \pm 2.39$  ml y  $2.3 \pm 2.35$  ml, la concentración de gas obtenida de los polisacáridos sulfatados 1 y 2 fue de  $17.9 \pm 3.81$  ml y  $14.6 \pm 3.38$  ml, y la de *Sargassum fluitans* pulverizado 1 y 2 fue de  $43.2 \pm 3.65$  ml y  $43.7 \pm 4.0$  ml, respectivamente, las cuales fueron significativamente mayores ( $p < 0.1$ ) que el grupo control. Adicionalmente la prueba de Tukey fue significativa con  $p < 0.1$  entre todos los grupos (figura 7).

Tabla 8. Producción de gas en cultivos mixtos en ml.

	N		Media		Desviación estándar	
	Estadístico	Estadístico	Error estándar	Estadístico	Estadístico	Estadístico
C1	72	1.0	.28222	2.39469		
C2	72	2.3	.27700	2.35039		
PS1	72	17.9*	.44959	3.81493		
PS2	72	14.6*	.38723	3.28572		
SFP1	72	43.2*	.43103	3.65738		
SFP2	72	43.7*	.47141	4.00006		
N válido (por lista)	72					

Cálculo de gas expresado en ml a temperatura de 37 °C con presión medida en psi (n=3). \* representa diferencia significativa en prueba Dunnet ( $p<0,0001$ ). C: Control; PS: Polisacáridos sulfatados; SFP: *Sargassum fluitans* pulverizado.

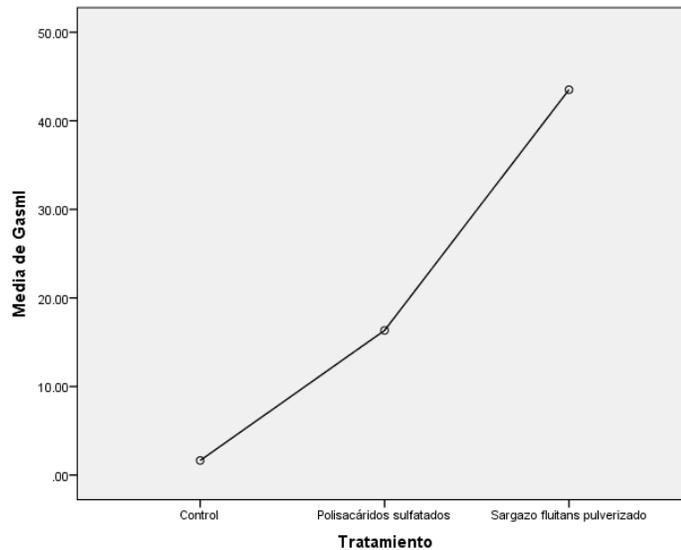


Figura 7. Diferencias en producción de gas

Se visualizan las diferencias de medias de la concentración de gas calculado a partir de la presión, entre el control, polisacáridos sulfatados y *Sargassum fluitans* pulverizado. Diferencia significativa en prueba Tukey ( $p<0,0001$ ).

## Producción de AGCC

Las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) después de 24 h de fermentación en cultivo mixto se encuentran en la tabla 9. El pH inicial de fermentación fue de 7.2. Los AGCC que fueron evaluados en todos los fermentadores fueron el ácido acético, el ácido propiónico, el ácido butírico, el ácido isobutírico, el ácido isovalérico, el ácido valérico y el ácido caproico. La concentración total de AGCC se obtuvo mediante la suma de estos siete AGCC. En

los fermentadores con solo heces (Control), la concentración total de AGCC fue de  $138.05 \pm 1.27932$  mM. En los experimentos con tratamiento de polisacáridos sulfatados (PS) y *Sargassum fluitans* pulverizado (SFP), la concentración de total de AGCC fue de  $170.1 \pm 2.66958$  mM,  $157.75 \pm 1.26095$  mM respectivamente, las cuales fueron significativamente mayores que las del grupo control. Estos resultados mostraron una significancia estadística de  $p < 0.01$  con un aumento principalmente de ácido acético. El tratamiento con polisacáridos sulfatados fue significativamente mayor ( $p < 0.01$ ) que en el tratamiento con *Sargassum fluitans* pulverizado. En la figura 8 y tabla 9 se pueden observar la diferencia de concentración de AGCC entre los diferentes tratamientos respecto al control.

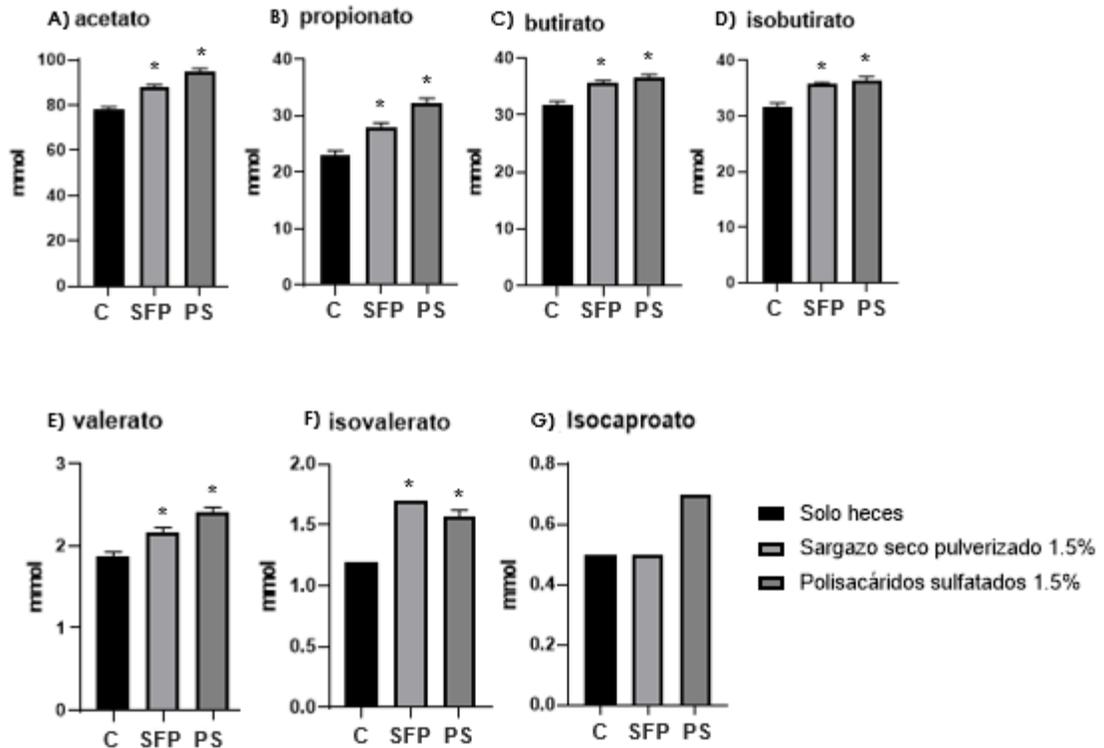


Figura 8. Ácidos grasos de cadena corta de manera individual

Comparación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en mmol/g A) Acetato, B) Propionato, C) Butirato, D) Isobutirato, E) Valerato, F) Isovalerato y G) Isocaproato con 1) solo heces al 1.5%, 2) Sargazo seco pulverizado al 1.5% y 3) Polisacáridos sulfatados al 1.5%. Se expresaron como media (n=3). \* representa diferencia significativa ( $p < 0,0001$ ) en comparación con el control basado en prueba Dunnet.

Tabla 9 Producción de ácidos grasos de cadena corta en cultivos mixtos

Tratamiento	Ácidos grasos de cadena corta										Total	
	Acetato	Propionato	Butirato	Isobutirato	Valerato	Isovalerato	Isocaproato					
PS	95.125 ± 1.1587***	32.125 ± 1.034***	36.475 ± 0.6898***	1.675 ± 0.05***	2.425 ± 0.05***	1.575 ± 0.05***	0.7 ± 0					170.1 ± 2.66958
SFP	88.375 ± 0.7274***	27.775 ± 0.9811***	35.675 ± 0.4425***	1.55 ± 0.577***	2.175 ± 0.05***	1.7 ± 0***	0.5 ± 0					157.75 ± 1.26095
Control	78.4 ± 0.8869	22.975 ± 0.8539	31.725 ± 0.6702	1.375 ± 0.957	1.875 ± 0.05	1.2 ± 0	0.5 ± 0					138.05 ± 1.27932

Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar (n=3). \*\*\* representa diferencia significativa (p<0,0001) en comparación con el control basado en prueba Dunnet. PS: Poliacáridos sulfatados; SFP: *Sargassum fluitans* pulverizado.

## XI. DISCUSIÓN

Existe evidencia emergente de que los polisacáridos derivados de distintas algas marrones son resistentes a la digestión humana y que son utilizados por la microbiota intestinal, mostrando actividad prebiótica (Ramnani *et al.*, 2012).

Autores como Charoensiddhi *et al.*, (2019), investigan sobre las algas marinas y sus compuestos bioactivos, haciendo énfasis en los polisacáridos. Afirmando que éstos pueden ser utilizados como un gran suplemento dietético con beneficios para la salud intestinal. Charoensiddhi *et al.*, coinciden con Lynch *et al.*, (2009) en que los polisacáridos de las macroalgas, efectivamente son resistentes a la digestión mediada por las enzimas del tracto gastrointestinal humano y que indirectamente estimulan el crecimiento de bacterias benéficas, así como la producción de ácidos grasos de cadena corta, confirmando de esta forma sus propiedades prebióticas.

### **Polisacáridos no sulfatados y AGCC**

En la actualidad se han estudiado distintas especies de *Sargassum* y su relación con la microbiota gastrointestinal. Fu *et al.*, (2018a) estudiaron el impacto del *Sargassum thunbergii* en la microbiota gastrointestinal, a partir de un polisacárido denominado ST-P2. Para este estudio se utilizaron muestras fecales de tres donadores humanos sanos, dando como resultado al igual que en el presente estudio, un aumento significativo de los ácidos grasos de cadena corta en comparación con el grupo control. Yang *et al.*, (2019) estudiaron hámsteres dorados sirios alimentados con elevadas cantidades de lípidos y sacarosa, tratados con *Sargassum confusum* generando un aumento de las poblaciones bacterianas benéficas y manteniendo en homeostasis la microbiota gastrointestinal. Wei *et al.*, (2021) analizaron el efecto de los polisacáridos del *Sargassum fusiforme* por dos métodos de extracción con agua y con ácido en la regulación de la microbiota cecal y fecal de ratones alimentados con alto contenido de lípidos. Se demostró que los ratones tratados con *Sargassum* previnieron el aumento de peso corporal, hubo un

control de la glucosa en sangre, además se reguló la disbiosis de la microbiota cecal y se controló el aumento de *Clostridiales* y *Ruminococcaceae* inducidos por la dieta alta en lípidos. Otros estudios también demostraron que los polisacáridos del *Sargassum* generan un aumento de las concentraciones de AGCC (Ajanth Praveen *et al.*, 2019; Fu *et al.*, 2018b; Rodrigues *et al.*, 2016).

Se sabe que los diferentes AGCC están relacionados con numerosos beneficios para el organismo. Por ejemplo, se ha descubierto que la suplementación con butirato, tiene diversos efectos benéficos metabólicos para el huésped, entre ellos la regulación de la microbiota, la prevención de obesidad inducida en animales (Arnoldussen *et al.*, 2017; Coppola *et al.*, 2021a; Fang *et al.*, 2019), la inducción del sueño en ratones por un mecanismo sensorial hepático (Szentirmai *et al.*, 2019) y la mejora de la atrofia muscular al influir en la función barrera intestinal en ratones con nefropatía diabética por medio de la activación de la vía PI3K/Akt/mTOR (Tang *et al.*, 2022). Además, se ha encontrado una asociación entre el índice de músculo esquelético y los niveles séricos de butirato en mujeres menopáusicas sanas (Lv *et al.*, 2021).

### **Polisacáridos sulfatados y AGCC**

Con relación a los polisacáridos sulfatados existe discrepancia dado que hay estudios que han demostrado su actividad prebiótica pero otros concluyeron que no es posible fermentar este tipo de polisacáridos. Por ejemplo, uno de los primeros estudios en evaluarlos fue mediante cultivos puros en un modelo *in vitro*, con muestras humanas, en donde el fucoïdan no fue fermentado por la MGI y genero prácticamente nula producción de AGCC (Michel & Macfarlane, 1996). Años después, se evaluó la actividad prebiótica del fucoïdan en varios modelos animales, en donde los resultados fueron contradictorios, algunos de ellos indicaban que si existían cambios en las poblaciones bacterianas y otros no (Cheng *et al.*, 2019; Shang *et al.*, 2016; Walsh *et al.*, 2013). Finalmente, otro de los estudios realizados

con fucoidan fue con muestras fecales de individuos asiáticos en donde se demostró un aumento de acetato y propionato, y aumento de colonias benéficas como *Lactobacillus* y *Bifidobacterias* (Kong *et al.*, 2016). Dentro de la discusión de estos estudios, podríamos inferir que quizá los sujetos asiáticos se han adaptado al fucoidan puesto que su dieta se caracteriza por ser alta de algas marinas a diferencia de otros continentes. Con relación a los animales, podríamos decir que algunos son capaces de digerir los fucoidanos y otros no. En esta investigación se demostró que las fermentaciones tratadas con polisacáridos sulfatados del *Sargassum fluitans* con muestras fecales de cerdos produjeron mayor cantidad de acetato, propionato y butirato que el grupo control.

Si bien la evaluación *in vitro* de la funcionalidad de los polisacáridos tiene sus limitaciones, incluidas el medio de cultivo, el ambiente, la microbiota *per se*, la relación de actividades entre la microbiota y el huésped, los hallazgos del presente estudio justifican que la suplementación con *Sargassum fluitans*, puede hacer de la microbiota gastrointestinal una comunidad bacteriana más saludable. La investigación proporciona evidencia de que el *Sargassum fluitans* aumenta la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales pueden contribuir a la salud gastrointestinal en humanos y animales.

## XII. CONCLUSIÓN

En conclusión, los polisacáridos del *Sargassum fluitans* aumentan la concentración de ácidos grasos de cadena corta, principalmente de acetato, propionato y butirato en comparación con el grupo control. Los resultados de esta investigación coadyuvan a darle al *Sargassum fluitans* otra aplicación y de esta manera, ampliar las posibilidades de estudio tanto de esta macroalga marina como de la microbiota gastrointestinal. Finalmente, la evidencia mostrada en este estudio sugiere que el *Sargassum fluitans* puede fungir como prebiótico, pudiendo contribuir a la salud gastrointestinal humana y/o animal, y además proveer nuevas direcciones para futuras investigaciones.

## XI. BIBLIOGRAFIA

- Achary, A., Muthalagu, K., & Guru, M. S. (2014). *Identification of Phytochemicals from Sargassum wightii against Aedes aegypti*. 57, 6.
- Agus, A., Clément, K., & Sokol, H. (2021). Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut*, 70(6), 1174-1182. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323071>
- Ajanth Praveen, M., Karthika Parvathy, K. R., Jayabalan, R., & Balasubramanian, P. (2019). Dietary fiber from Indian edible seaweeds and its in-vitro prebiotic effect on the gut microbiota. *Food Hydrocolloids*, 96, 343-353. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.031>
- Al-Roub, A., Akhter, N., Al-Sayyar, A., Wilson, A., Thomas, R., Kochumon, S., Al-Rashed, F., Al-Mulla, F., Sindhu, S., & Ahmad, R. (2021). Short Chain Fatty Acid Acetate Increases TNF $\alpha$ -Induced MCP-1 Production in Monocytic Cells via ACSL1/MAPK/NF- $\kappa$ B Axis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7683. <https://doi.org/10.3390/ijms22147683>
- Arencibia-Carballo, G., Batallán, J. M. I., Morell, J., & González, Á. R. M. (2020). Arribazones de Sargassum en la costa norte occidental de Cuba. *JAINA, Costas y Mares ante el Cambio Climático*, 2(1), Art. 1.
- Arnoldussen, I. a. C., Wiesmann, M., Pelgrim, C. E., Wielemaker, E. M., van Duyvenvoorde, W., Amaral-Santos, P. L., Verschuren, L., Keijser, B. J. F., Heerschap, A., Kleemann, R., Wielinga, P. Y., & Kiliaan, A. J. (2017). Butyrate restores HFD-induced adaptations in brain function and metabolism in mid-

- adult obese mice. *International Journal of Obesity*, 41(6), Art. 6.  
<https://doi.org/10.1038/ijo.2017.52>
- Arsianti, A., Bahtiar, A., Wangsaputra, V., Azizah, N., Fachri, W., Nadapdap, L., Fajrin, A., Tanimoto, H., & Kakiuchi, K. (2020). Phytochemical Composition and Evaluation of Marine Algal *Sargassum polycystum* for Antioxidant Activity and In Vitro Cytotoxicity on Hela Cells. *Pharmacognosy Journal*, 12(1), 88-94. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.14>
- Baleta, F. N., Bolaños, J. M., Ruma, O. C., Baleta, A. N., & Cairel, J. D. (2017). *Phytochemicals screening and antimicrobial properties of Sargassum oligocystum and Sargassum crassifolium Extracts*. 6.
- Bernal, C. A. (2010). *Metodología de la investigación*.
- Blaak, E. e., Canfora, E. e., Theis, S., Frost, G., Groen, A. k., Mithieux, G., Nauta, A., Scott, K., Stahl, B., van Harsseelaar, J., van Tol, R., Vaughan, E. e., & Verbeke, K. (2020). Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Beneficial Microbes*, 11(5), 411-455. <https://doi.org/10.3920/BM2020.0057>
- Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D. T., Corfe, B. M., & Owen, L. J. (2015). Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26(s2), 26191. <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.26191>
- Cerqueda-García, D., Falcón, L. I., Cerqueda-García, D., & Falcón, L. I. (2016). La construcción del nicho y el concepto de holobionte, hacia la reestructuración de un paradigma. *Revista mexicana de biodiversidad*, 87(1), 239-241. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.11.001>

- Charoensiddhi, S., Abraham, R. E., Su, P., & Zhang, W. (2019). Chapter Four— Seaweed and seaweed-derived metabolites as prebiotics. En F. Toldrá (Ed.), *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 91, pp. 97-156). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.10.001>
- Charoensiddhi, S., Conlon, M. A., Vuaran, M. S., Franco, C. M. M., & Zhang, W. (2016). Impact of extraction processes on prebiotic potential of the brown seaweed *Ecklonia radiata* by in vitro human gut bacteria fermentation. *Journal of Functional Foods*, *24*, 221-230. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.04.016>
- Chen, S., Sathuvan, M., Zhang, X., Zhang, W., Tang, S., Liu, Y., & Cheong, K.-L. (2021). Characterization of polysaccharides from different species of brown seaweed using saccharide mapping and chromatographic analysis. *BMC Chemistry*, *15*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13065-020-00727-w>
- Chen, Y., Zhou, J., & Wang, L. (2021). Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2021.625913>
- Cheng, Y., Sibusiso, L., Hou, L., Jiang, H., Chen, P., Zhang, X., Wu, M., & Tong, H. (2019). *Sargassum fusiforme* fucoidan modifies the gut microbiota during alleviation of streptozotocin-induced hyperglycemia in mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, *131*, 1162-1170. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.040>
- Coppola, S., Avagliano, C., Calignano, A., & Berni Canani, R. (2021a). The Protective Role of Butyrate against Obesity and Obesity-Related Diseases. *Molecules*, *26*(3), Art. 3. <https://doi.org/10.3390/molecules26030682>

- Coppola, S., Avagliano, C., Calignano, A., & Berni Canani, R. (2021b). The Protective Role of Butyrate against Obesity and Obesity-Related Diseases. *Molecules*, 26(3), 682. <https://doi.org/10.3390/molecules26030682>
- Cummings, J. H., & Macfarlane, G. T. (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *The Journal of Applied Bacteriology*, 70(6), 443-459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb02739.x>
- Debbarma, J., Madhusudana Rao, B., Murthy, L. N., Mathew, S., Venkateshwarlu, G., & Ravishankar, C. N. (2016). Nutritional profiling of the edible seaweeds *Gracilaria edulis*, *Ulva lactuca* and *Sargassum* sp. *Indian Journal of Fisheries*, 63(3). <https://doi.org/10.21077/ijf.2016.63.3.60073-11>
- Deleu, S., Machiels, K., Raes, J., Verbeke, K., & Vermeire, S. (2021). Short chain fatty acids and its producing organisms: An overlooked therapy for IBD? *EBioMedicine*, 66. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103293>
- Desai, M. S., Seekatz, A. M., Koropatkin, N. M., Kamada, N., Hickey, C. A., Wolter, M., Pudlo, N. A., Kitamoto, S., Terrapon, N., Muller, A., Young, V. B., Henrissat, B., Wilmes, P., Stappenbeck, T. S., Núñez, G., & Martens, E. C. (2016). A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell*, 167(5), 1339-1353.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.043>
- Djakouré, S., Araujo, M., Hounsou-Gbo, A., Noriega, C., & Boursès, B. (2018). *On the potential causes of the recent Pelagic Sargassum blooms events in the*

- tropical North Atlantic Ocean* [Preprint]. Biogeophysics: Physical - Biological Coupling. <https://doi.org/10.5194/bg-2017-346>
- Donaldson, D. S., Else, K. J., & Mabbott, N. A. (2015). The Gut-Associated Lymphoid Tissues in the Small Intestine, Not the Large Intestine, Play a Major Role in Oral Prion Disease Pathogenesis. *Journal of Virology*, 89(18), 9532-9547. <https://doi.org/10.1128/JVI.01544-15>
- Escudero, E., & González, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición hospitalaria*, 21, 61-72.
- Fang, W., Xue, H., Chen, X., Chen, K., & Ling, W. (2019). Supplementation with Sodium Butyrate Modulates the Composition of the Gut Microbiota and Ameliorates High-Fat Diet-Induced Obesity in Mice. *The Journal of Nutrition*, 149(5), 747-754. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy324>
- FAO. (2001). *Food safety and quality: Probióticos*. <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/a-z-index/probiotics/es/>
- Fernández-Veledo, S., & Vendrell, J. (2019). Gut microbiota-derived succinate: Friend or foe in human metabolic diseases? *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 20(4), 439-447. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09513-z>
- FLESCH, A. G. T., POZIOMYCK, A. K., & DAMIN, D. D. C. (2014). THE THERAPEUTIC USE OF SYMBIOTICS. *Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva : ABCD = Brazilian Archives of Digestive Surgery*, 27(3), 206-209. <https://doi.org/10.1590/S0102-67202014000300012>

- Fu, X., Cao, C., Ren, B., Zhang, B., Huang, Q., & Li, C. (2018a). Structural characterization and in vitro fermentation of a novel polysaccharide from *Sargassum thunbergii* and its impact on gut microbiota. *Carbohydrate Polymers*, 183, 230-239. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.048>
- Fu, X., Cao, C., Ren, B., Zhang, B., Huang, Q., & Li, C. (2018b). Structural characterization and in vitro fermentation of a novel polysaccharide from *Sargassum thunbergii* and its impact on gut microbiota. *Carbohydrate Polymers*, 183, 230-239. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.048>
- Gasaly, N., Hermoso, M. A., & Gotteland, M. (2021). Butyrate and the Fine-Tuning of Colonic Homeostasis: Implication for Inflammatory Bowel Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), Art. 6. <https://doi.org/10.3390/ijms22063061>
- Gibson, D. G., Glass, J. I., Lartigue, C., Noskov, V. N., Chuang, R.-Y., Algire, M. A., Benders, G. A., Montague, M. G., Ma, L., Moodie, M. M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Assad-Garcia, N., Andrews-Pfannkoch, C., Denisova, E. A., Young, L., Qi, Z.-Q., Segall-Shapiro, T. H., ... Venter, J. C. (2010). Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome. *Science*, 329(5987), 52-56. <https://doi.org/10.1126/science.1190719>
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on

- the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491-502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Gomez-Zavaglia, A., Prieto Lage, M. A., Jimenez-Lopez, C., Mejuto, J. C., & Simal-Gandara, J. (2019). The Potential of Seaweeds as a Source of Functional Ingredients of Prebiotic and Antioxidant Value. *Antioxidants*, 8(9). <https://doi.org/10.3390/antiox8090406>
- González Hernández, M. A., Canfora, E. E., Jocken, J. W. E., & Blaak, E. E. (2019). The Short-Chain Fatty Acid Acetate in Body Weight Control and Insulin Sensitivity. *Nutrients*, 11(8), Art. 8. <https://doi.org/10.3390/nu11081943>
- Gritz, E. C., & Bhandari, V. (2015). The Human Neonatal Gut Microbiome: A Brief Review. *Frontiers in Pediatrics*, 3, 17. <https://doi.org/10.3389/fped.2015.00017>
- Guarner, F. (2007). Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutrición Hospitalaria*, 22, 14-19.
- Guarner, F., & Guarner, F. (2020). Simbiosis en el tracto gastrointestinal humano. *Nutrición Hospitalaria*, 37(SPE2), 34-37. <https://doi.org/10.20960/nh.03354>
- Guillot, C. D. C. (2017). Microbiota intestinal, probióticos y prebióticos. *Enfermería Investiga: Investigación, Vinculación, Docencia y Gestión*, 2(4 (Enfermería Investiga: Investigación), 156-160.
- Gurpilhares, D. de B., Cinelli, L. P., Simas, N. K., Pessoa, A., & Sette, L. D. (2019). Marine prebiotics: Polysaccharides and oligosaccharides obtained by using microbial enzymes. *Food Chemistry*, 280, 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.023>

- Han, Z.-L., Yang, M., Fu, X.-D., Chen, M., Su, Q., Zhao, Y.-H., & Mou, H.-J. (2019). Evaluation of Prebiotic Potential of Three Marine Algae Oligosaccharides from Enzymatic Hydrolysis. *Marine Drugs*, 17(3).  
<https://doi.org/10.3390/md17030173>
- Hdez, A. H., Coronel, C., Zamorano, M. M., & Herrera, C. Q. (2015). *Microbiota, Probióticos, Prebióticos y Simbióticos*. 20.
- Hee, B. van der, & Wells, J. M. (2021). Microbial Regulation of Host Physiology by Short-chain Fatty Acids. *Trends in Microbiology*, 0(0).  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.02.001>
- Herath, M., Hosie, S., Bornstein, J. C., Franks, A. E., & Hill-Yardin, E. L. (2020). The Role of the Gastrointestinal Mucus System in Intestinal Homeostasis: Implications for Neurological Disorders. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2020.00248>
- Hernandez Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Bautista Lucio, P. (2014). *Metodología de la investigación*. McGraw Hill Interamericana.
- Hou, K., Wu, Z.-X., Chen, X.-Y., Wang, J.-Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., Li, J., & Chen, Z.-S. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7(1), Art. 1.  
<https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4>
- Icaza-Chávez, M. E. (2013). Gut microbiota in health and disease. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition)*, 78(4), 240-248.  
<https://doi.org/10.1016/j.rgmxen.2014.02.009>

- Insel, P., Ross, D., McMahon, K., & Bernstein, M. (2019). *Discovering Nutrition* (6a ed.). Jones & Bartlett Learning.
- Ishiguro, E., Haskey, N., & Campbell, K. (2018). *GUT MICROBIOTA Interactive Effects on Nutrition and Health*. Elsevier.
- Janarthanan, M., & Kumar, M. S. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phytochemical studies on selected seaweeds *acanthopora spicifera* and *sargassum wightii*. *International Journal of Engineering Research and Development*, 7(3), 11-15.
- Kong, Q., Dong, S., Gao, J., & Jiang, C. (2016). In vitro fermentation of sulfated polysaccharides from *E. prolifera* and *L. japonica* by human fecal microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 867-871. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.036>
- Kumar, S., Sahoo, D., & Levine, I. (2015). Assessment of nutritional value in a brown seaweed *Sargassum wightii* and their seasonal variations. *Algal Research*, 9, 117-125. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.024>
- Liu, J., Luthuli, S., Wu, Q., Wu, M., Choi, J., & Tong, H. (2020). Pharmaceutical and Nutraceutical Potential Applications of *Sargassum fulvellum*. *BioMed Research International*, 2020, 2417410. <https://doi.org/10.1155/2020/2417410>
- Liu, J., Luthuli, S., Yang, Y., Cheng, Y., Zhang, Y., Wu, M., Choi, J., & Tong, H. (2020). Therapeutic and nutraceutical potentials of a brown seaweed *Sargassum fusiforme*. *Food Science & Nutrition*, 8(10), 5195-5205. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1835>

- Liu, L., Heinrich, M., Myers, S., & Dworjany, S. A. (2012). Towards a better understanding of medicinal uses of the brown seaweed *Sargassum* in Traditional Chinese Medicine: A phytochemical and pharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 142(3), 591-619. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.05.046>
- Liu, Y., Wang, J., & Wu, C. (2022). Modulation of Gut Microbiota and Immune System by Probiotics, Pre-biotics, and Post-biotics. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2021.634897>
- Lupton, J. R. (2004). Microbial degradation products influence colon cancer risk: The butyrate controversy. *The Journal of Nutrition*, 134(2), 479-482. <https://doi.org/10.1093/jn/134.2.479>
- Lv, W.-Q., Lin, X., Shen, H., Liu, H.-M., Qiu, X., Li, B.-Y., Shen, W.-D., Ge, C.-L., Lv, F.-Y., Shen, J., Xiao, H.-M., & Deng, H.-W. (2021). Human gut microbiome impacts skeletal muscle mass via gut microbial synthesis of the short-chain fatty acid butyrate among healthy menopausal women. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 12(6), 1860-1870. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12788>
- Lynch, M. B., Sweeney, T., Callan, J. J., O'Sullivan, J. T., & O'Doherty, J. V. (2009). The effect of dietary *Laminaria*-derived laminarin and fucoidan on nutrient digestibility, nitrogen utilisation, intestinal microflora and volatile fatty acid concentration in pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, n/a-n/a. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3834>

- Maia, M. R. G., Fonseca, A. J. M., Oliveira, H. M., Mendonça, C., & Cabrita, A. R. J. (2016). The Potential Role of Seaweeds in the Natural Manipulation of Rumen Fermentation and Methane Production. *Scientific Reports*, 6(1), Art. 1. <https://doi.org/10.1038/srep32321>
- Marimuthu, J., @Antonisamy, Essakimuthu, P., Narayanan, J., Anantham, B., Tharmaraj, R. J. J. M., & Arumugam, S. (2012). Phytochemical characterization of brown seaweed *Sargassum wightii*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2, S109-S113. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60134-0](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60134-0)
- Markowiak-Kopeć, P., & Śliżewska, K. (2020). The Effect of Probiotics on the Production of Short-Chain Fatty Acids by Human Intestinal Microbiome. *Nutrients*, 12(4), Art. 4. <https://doi.org/10.3390/nu12041107>
- Mattio, L., & Payri, C. E. (2011). 190 Years of *Sargassum* Taxonomy, Facing the Advent of DNA Phylogenies. *The Botanical Review*, 77(1), 31-70. <https://doi.org/10.1007/s12229-010-9060-x>
- Mattio, L., Payri, C. E., Verlaque, M., & Reviere, B. de. (2010). Taxonomic revision of *Sargassum* sect. *Acanthocarpicae* (Fucales, Phaeophyceae). *TAXON*, 59(3), 896-904. <https://doi.org/10.1002/tax.593017>
- Mehdinezhad, N., Ghannadi, A., & Yegdaneh, A. (2016). Phytochemical and biological evaluation of some *Sargassum* species from Persian Gulf. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(3), 243-249.
- Michel, C., & Macfarlane, G. T. (1996). Digestive fates of soluble polysaccharides from marine macroalgae: Involvement of the colonic microflora and

- physiological consequences for the host. *The Journal of Applied Bacteriology*, 80(4), 349-369. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03230.x>
- Muñoz, A. A., de Biodiversidad, I., & Ambiente, A. C. (2019). *EL SARGAZO EN EL CARIBE MEXICANO: DE LA NEGACIÓN Y EL VOLUNTARISMO A LA REALIDAD*.
- Múzquiz de la Garza, A. R., Tapia-Salazar, M., Maldonado-Muñiz, M., de la Rosa-Millán, J., Gutiérrez-Urbe, J. A., Santos-Zea, L., Barba-Dávila, B. A., Ricque-Marie, D., & Cruz-Suárez, L. E. (2019). Nutraceutical Potential of Five Mexican Brown Seaweeds. *BioMed Research International*, 2019, 3795160. <https://doi.org/10.1155/2019/3795160>
- NEISH, A. S. (2009). Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. *Gastroenterology*, 136(1), 65-80. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.10.080>
- Nicholson, J. K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., & Pettersson, S. (2012). Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 336(6086), 1262-1267.
- Nogal, A., Valdes, A. M., & Menni, C. (s. f.). The role of short-chain fatty acids in the interplay between gut microbiota and diet in cardio-metabolic health. *Gut Microbes*, 13(1), 1897212. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1897212>
- Ochoa, C. (2013). La biota intestinal, el metabolismo energético, y la Diabetes mellitus. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 23(1), 113-129.

- OMS. (2018). *Enfermedades cardiovasculares—OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud*. <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-cardiovasculares>
- Peñalver, R., Lorenzo, J. M., Ros, G., Amarowicz, R., Pateiro, M., & Nieto, G. (2020). Seaweeds as a Functional Ingredient for a Healthy Diet. *Marine Drugs*, 18(6), Art. 6. <https://doi.org/10.3390/md18060301>
- Perera-Valderrama, S. (2018). *Acciones para incrementar la resiliencia de arrecifes coralinos: Experiencia compartida entre Cuba y México*. En: Zanuy, A. (Ed.) *Adaptación basada en ecosistemas*. (p. 20).
- Perumal, B., Chitra, R., Maruthupandian, A., & Viji, M. (2019). Nutritional assessment and bioactive potential of *Sargassum polycystum* C. Agardh (Brown Seaweed). *INDIAN J. MAR. SCI.*, 48(04), 7.
- Pineiro, M., Asp, N.-G., Reid, G., Macfarlane, S., Morelli, L., Brunser, O., & Tuohy, K. (2008). FAO Technical meeting on prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42 Suppl 3 Pt 2, S156-159. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31817f184e>
- Pires, E. S., Hardoim, C. C. P., Miranda, K. R., Secco, D. A., Lobo, L. A., de Carvalho, D. P., Han, J., Borchers, C. H., Ferreira, R. B. R., Salles, J. F., Domingues, R. M. C. P., & Antunes, L. C. M. (2019). The Gut Microbiome and Metabolome of Two Riparian Communities in the Amazon. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.02003>

- Ponce Rey, L. de R., del Barrio Alonso, G. del C., Spengler Salabarría, I., Resik Aguirre, S., & Roque Quintero, A. (2018). Evaluación de la actividad antiviral del alga parda *Sargassum fluitans* frente a Echovirus 9. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 70(2), 1-10.
- Ramnani, P., Chitarrari, R., Tuohy, K., Grant, J., Hotchkiss, S., Philp, K., Campbell, R., Gill, C., & Rowland, I. (2012). In vitro fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. *Anaerobe*, 18(1), 1-6.  
<https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.08.003>
- Rashed, Z. E., Grasselli, E., Khalifeh, H., Canesi, L., & Demori, I. (2020). Brown-Algae Polysaccharides as Active Constituents against Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Planta Medica*, a-1273-3159. <https://doi.org/10.1055/a-1273-3159>
- Rodrigues, D., Walton, G., Sousa, S., Rocha-Santos, T. A. P., Duarte, A. C., Freitas, A. C., & Gomes, A. M. P. (2016). In vitro fermentation and prebiotic potential of selected extracts from seaweeds and mushrooms. *LWT*, 73, 131-139.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.004>
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2016). *Harper Bioquímica Ilustrada. 75 aniversario.* (30a ed.). 978-607-15-1368-7.
- Rosas, M. R. (2011). Inmunonutrición. Probióticos, prebióticos y simbióticos. *Offarm*, 30(4), 54-59.
- Roth, R. A. (2009). *Nutrición y dietoterapia* (9a ed.). McGraw-Hill.

- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological reviews*, 90(3), 859-904.
- Setyati, W. A., Pramesti, R., Zainuddin, M., Puspita, M., & Renta, P. P. (2018). Cytotoxicity and Phytochemical Profiling of *Sargassum Sp.* Extract As Anti-Mdr Bacteria. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 116, 012024. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/116/1/012024>
- Shang, Q., Jiang, H., Cai, C., Hao, J., Li, G., & Yu, G. (2018). Gut microbiota fermentation of marine polysaccharides and its effects on intestinal ecology: An overview. *Carbohydrate Polymers*, 179, 173-185. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.059>
- Shang, Q., Shan, X., Cai, C., Hao, J., Li, G., & Yu, G. (2016). Dietary fucoidan modulates the gut microbiota in mice by increasing the abundance of Lactobacillus and Ruminococcaceae. *Food & Function*, 7(7), 3224-3232. <https://doi.org/10.1039/c6fo00309e>
- Sherwani, S. K., Nazim, K., TARIQ MEHMOOD KHAN, Ahmed, M., Malik, M. W., Noor, A. A., Khan, M. U., Ali, Q. M., & Alam, S. I. (2012). PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL SCREENING OF CRUDE EXTRACT OF SARGASSUM TENERRIMUM J. AGARDH AGAINST POTENTIAL HUMAN PATHOGENS. *FUUAST Journal of Biology*, 2(2 December), Art. 2 December.
- Silva, T. M. A., Alves, L. G., de Queiroz, K. C. S., Santos, M. G. L., Marques, C. T., Chavante, S. F., Rocha, H. a. O., & Leite, E. L. (2005). Partial characterization and anticoagulant activity of a heterofucan from the brown seaweed *Padina gymnospora*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista*

*Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 38(4), 523-533.

<https://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000400005>

Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. *Nutrients*, 5(4), Art. 4. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>

Sujatha, R., Siva, D., & Nawas, P. M. A. (2019). Screening of phytochemical profile and antibacterial activity of various solvent extracts of marine algae *Sargassum swartzii*. *World Scientific News*, 115, 27-40.

Szentirmai, É., Millican, N. S., Massie, A. R., & Kapás, L. (2019). Butyrate, a metabolite of intestinal bacteria, enhances sleep. *Scientific Reports*, 9(1), 7035. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43502-1>

Tang, G., Du, Y., Guan, H., Jia, J., Zhu, N., Shi, Y., Rong, S., & Yuan, W. (2022). Butyrate ameliorates skeletal muscle atrophy in diabetic nephropathy by enhancing gut barrier function and FFA2-mediated PI3K/Akt/mTOR signals. *British Journal of Pharmacology*, 179(1), 159-178. <https://doi.org/10.1111/bph.15693>

Tungland, B. (2018). *Human Microbiota in Health and Disease Pathogenesis to Therapy*. Elsevier.

van Tussenbroek, B. I., Hernández Arana, H. A., Rodríguez-Martínez, R. E., Espinoza-Avalos, J., Canizales-Flores, H. M., González-Godoy, C. E., Barba-Santos, M. G., Vega-Zepeda, A., & Collado-Vides, L. (2017). Severe impacts of brown tides caused by *Sargassum* spp. On near-shore Caribbean seagrass communities. *Marine Pollution Bulletin*, 122(1-2), 272-281. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.057>

- Vernocchi, P., Del Chierico, F., & Putignani, L. (2016). Gut Microbiota Profiling: Metabolomics Based Approach to Unravel Compounds Affecting Human Health. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01144>
- Villasís-Keever, M. A., & Miranda-Navales, M. G. (2016). El protocolo de investigación II: Los diseños de estudio para investigación clínica. *Revista Alergia México*, 63(1), 80. <https://doi.org/10.29262/ram.v63i1.163>
- Walsh, A. M., Sweeney, T., O'Shea, C. J., Doyle, D. N., & O'Doherty, J. V. (2013). Effect of dietary laminarin and fucoidan on selected microbiota, intestinal morphology and immune status of the newly weaned pig. *The British Journal of Nutrition*, 110(9), 1630-1638. <https://doi.org/10.1017/S0007114513000834>
- Wang, M., & Hu, C. (2016). Mapping and quantifying Sargassum distribution and coverage in the Central West Atlantic using MODIS observations. *Remote Sensing of Environment*, 183, 350-367. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2016.04.019>
- Wei, B., Xu, Q.-L., Zhang, B., Zhou, T.-S., Ke, S.-Z., Wang, S.-J., Wu, B., Xu, X.-W., & Wang, H. (2021). Comparative Study of Sargassum fusiforme Polysaccharides in Regulating Cecal and Fecal Microbiota of High-Fat Diet-Fed Mice. *Marine Drugs*, 19(7), 364. <https://doi.org/10.3390/md19070364>
- Williams, M. H. (2010). *Nutrition for health, fitness, & sport* (9a ed.). McGraw-Hill.
- Xie, X.-T., & Cheong, K.-L. (2021). Recent advances in marine algae oligosaccharides: Structure, analysis, and potential prebiotic activities. *Critical*

*Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-16.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1916736>

Xu, C., Zhu, H., & Qiu, P. (2019). Aging progression of human gut microbiota. *BMC Microbiology*, 19(1), 236. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1616-2>

Yahia, E. M. (2018). *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health*, 2 Volumes. John Wiley & Sons.

Yang, C., Lai, S., Chen, Y., Liu, D., Liu, B., Ai, C., Wan, X., Gao, L., Chen, X., & Zhao, C. (2019). Anti-diabetic effect of oligosaccharides from seaweed *Sargassum confusum* via JNK-IRS1/PI3K signalling pathways and regulation of gut microbiota. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110562. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110562>

Yoo, J. Y., Groer, M., Dutra, S. V. O., Sarkar, A., & McSkimming, D. I. (2020). Gut Microbiota and Immune System Interactions. *Microorganisms*, 8(10), Art. 10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101587>